Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

W. RUHLAND UNTERDEUFSTETTEN — **L. BRAUNER** MÜNCHEN — **E. BÜNNING** TÜBINGEN

50. BAND, 3. HEFT

MIT 70 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 9. DEZEMBER 1957)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1957

Planta (Berl.)

Preis DM 26.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*.

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an *Professor Dr. Leo Brauner*, *München 19*, *Menzingerstr. 67*, *Botanisches Inst. der Universität*.

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901

---

50. Band

Inhaltsverzeichnis

3. Heft

Linser, H., und R. Kirschner, Zur Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. I. Die Einwirkung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure auf Erodium cicutarium. Mit 12 Textabbildungen 211

Linser, H., O. Kiermayer und R. Jarosch, Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. II. Formbildende Wirkungen verschiedener Stoffe bei Trifolium pratense. Mit 3 Textabbildungen 238

Braun, M., Zur Kenntnis von Epilobium. II. Teil: Entwicklungsgeschichte des Sprosses Mit 15 Textabbildungen 250

Melchior, G. H., Über den Abbau von Indolderivaten. I. Mitteilung: Photolyse durch ultraviolettes Licht. Mit 7 Textabbildungen 262

Stein von Kamienski, E., Untersuchungen über die flüchtigen Amine der Pflanzen. I. Mitteilung: Methodik der Trennung und des Nachweises flüchtiger Amine. Mit 31 Textabbildungen 291

Stein von Kamienski, E., Untersuchungen über die flüchtigen Amine der Pflanzen. II. Mitteilung: Die Amine von Blütenpflanzen und Moosen. Mit 2 Textabbildungen 315

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 50, S. 211—237 (1957)

Aus der Biologischen Forschungsabteilung der „Österreichische Stickstoffwerke Aktiengesellschaft" (Leiter: Priv.-Doz. Dr. Hans Linser), Linz a. d. Donau

ZUR BEEINFLUSSUNG DER BLATTBILDUNG DURCH MORPHOREGULATOREN

I. DIE EINWIRKUNG VON 2,4-DICHLORPHENOXYESSIGSÄURE AUF ERODIUM CICUTARIUM

Von

H. Linser und R. Kirschner

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Juli 1957)

Einleitung

Zahlreiche Beobachtungen über Veränderungen morphologischer Merkmale bei Pflanzen, welche mit 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure und ähnlichen im Zellstreckungssystem als Wuchs- oder Hemmstoffe wirksamen Substanzen behandelt wurden (vgl. Linser, Frohner und Kirschner 1953, Hanf 1957), ließen die Vermutung begründet erscheinen, daß die bei der Entwicklung von Pflanzenorganen (Blättern, Achsenorganen usw.) sich abspielenden Vorgänge von Wuchsstoffen des Zellstreckungssystems nicht nur von außen her beeinflußt werden können, sondern daß diese Entwicklungsvorgänge auch normalerweise durch pflanzeneigene Hormone dieser (oder ähnlicher) Art reguliert werden. Seither hat sich gezeigt, daß eine große Zahl von synthetischen Stoffen zur Hervorrufung morphologischer Wirkungen (bzw. Entwicklungsumsteuerungen) befähigt ist, daß aber kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen dieser Fähigkeit der Stoffe und ihrer fördernden oder hemmenden Wirkung im Zellstreckungssystem zu bestehen scheint. Da ferner angenommen werden darf, daß das Zellstreckungswachstum zwar einen wichtigen Faktor im Ablauf der pflanzlichen Formbildungsvorgänge darstellt, aber sicherlich nicht dabei allein bestimmend eingreift, ist es zweckmäßig, bei einem eingehenderen Studium der pflanzlichen Formbildungsvorgänge nicht von vornherein anzunehmen, daß alle daran beteiligten hormonartigen Regulatoren zugleich solche des Zellstreckungswachstum sein müßten. Wenn es z. B. „blütenbildende Stoffe" geben sollte (wofür vieles spricht), so würde es sich hierbei offenbar nicht um das Zellstreckungs-, sondern um ein andersartiges System handeln, welches stofflich (hormonal) beeinflußt würde. Auch diejenigen Stoffe, welche ähnlich wie 3-Aminotriazol bei Anwendung von außen her die Chlorophyllbildung zu unterbinden imstande sind (und die bei panaschierten Pflanzen wahrscheinlich in der Pflanze selbst, ähnlich wie

bzw. als Hormone erzeugt werden können), sind in der Lage, morphogenetische Wirkungen auszuüben, ohne aber im Zellstreckungssystem wirksam zu sein oder ihren Formbildungseffekt über einen Vorgang der Zellstreckung zu erreichen. Es erscheint daher notwendig, jene Gruppe von Stoffen, welche pflanzliche Formbildungsvorgänge in hormonaler Art zu regeln und zu steuern vermag, für sich als die Stoffgruppe der *Morphoregulatoren* zu kennzeichnen. Unter diesen spielen zweifellos die Zellstreckungswuchs- und -hemmstoffe eine bedeutende Rolle. Sie bieten uns gegenwärtig einen besonders günstigen Ansatzpunkt für experimentelle Bestrebungen zur Aufklärung der hormonalen Vorgänge, welche die pflanzliche Formbildung lenken, und die hiermit beginnende Reihe von Untersuchungen hat es sich zum Ziele gesetzt, die Wirkungen verschiedener solcher Stoffe auf verschiedene pflanzliche Formbildungsvorgänge zu studieren, um zu einer Kenntnis auch der normalen morphologischen Vorgänge zu gelangen.

Um über die auf dem Gesamtgebiete der hormonalen Steuerung pflanzlicher Formbildungsvorgänge vorhandenen Möglichkeiten Rechenschaft zu geben und Fragestellungen sowie zweckmäßige experimentelle Schritte abstecken zu können, war es wünschenswert, das bisher vorliegende Material zur Gewinnung einer Arbeitshypothese zu benützen, welche die bei Formbildungsvorgängen wahrscheinlichen, hormonalen Wirkungen mit bekannten Tatsachen in Verbindung zu bringen trachtet und dann durch weitere experimentelle Untersuchungen auf ihre Tragfähigkeit (oder ihr Versagen) geprüft werden kann. Auf Grund bisheriger Beobachtungen, Erfahrungen und Untersuchungen kam der eine von uns (Linser 1957) zu der folgenden, vorläufigen Arbeitshypothese:

Jede Pflanze besitzt natürlicherweise einen bestimmten Hormongehalt. Die Reaktionsweise der Pflanze entspricht diesem Hormongehalt. Wäre es möglich, Pflanzen einer bestimmten Species sowohl wuchsstoffrei als auch mit ganz verschiedenen Hormongehalten zu ziehen, so würden die hormonregulierten Entwicklungsvorgänge dieser Pflanzen jeweils so gesteuert werden, wie dies der jeweiligen Höhe des Hormonspiegels entspricht. Hierbei müßte die Pflanze prinzipiell der für den entsprechenden, regulierbaren Vorgang gültigen Konzentrations-Wirkungskurve folgen, welche den Zusammenhang zwischen der Höhe des Hormonspiegels und der Größe beispielsweise des Zellstreckungswachstums allgemein so regelt, wie dies die schematische Darstellung in Abb. 1 zeigt.

Nehmen wir das Zellstreckungswachstum als Beispiel für den hormongeregelten Entwicklungsvorgang, und nehmen wir an, in der Pflanze läge natürlicherweise ein Hormongehalt A (vgl. Abb. 1) vor, so würden sich alle Zellstreckungsvorgänge mit der diesem Gehalt A entsprechenden Geschwindigkeit vollziehen und daher zu einem bestimmten

Entwicklungsergebnis führen: also zu der charakteristischen Pflanzengestalt A. Läge aber der Hormongehalt natürlicherweise höher, nämlich bei B, so würden die Zellstreckungsvorgänge mit viel höherer Geschwindigkeit ablaufen und (bei unveränderten Verhältnissen der sonstigen an der Entwicklung beteiligten Faktoren) zu einem anderen Ergebnis, nämlich zu der charakteristischen Pflanzengestalt B führen. Eine Pflanzenart, welche normalerweise ein Wuchsstoffniveau A besitzt, wird daher stets ihre Form A und normalerweise nie die Form B zeigen. Wenn wir aber durch Zuführung von Wuchsstoff den Hormonspiegel von A auf B heben, so werden die Entwicklungsvorgänge nicht mehr zur Form A, sondern zur Form B führen. Bei noch weiterer Steigerung des Hormonspiegels auf die Höhe C würde ebenso eine Form C entstehen, und es würde diese, wenn es sich dabei ausschließlich um morphologische Wirkungen des Zellstreckungssystems handeln würde, identisch sein mit einer Form C′, welche entstehen würde, wenn die betreffende Pflanze von Natur aus nicht das Hormonniveau A, sondern das niedriger liegende C′ besäße. Diese, mit Hilfe der Abb. 1 veranschaulichte Überlegung zeigt aber auch, daß das gleiche Formziel durch Einführung eines Hemmstoffes bei der Pflanze mit dem Niveau A erreicht werden kann, indem so viel Hemmstoff zugeführt wird, daß die Zellstreckungswirkung auf das Niveau C″ (= C bzw. C′) gesenkt wird. Wir erhalten daher für die Versuchspflanze folgende (theoretisch mögliche) morphologische Spielarten:

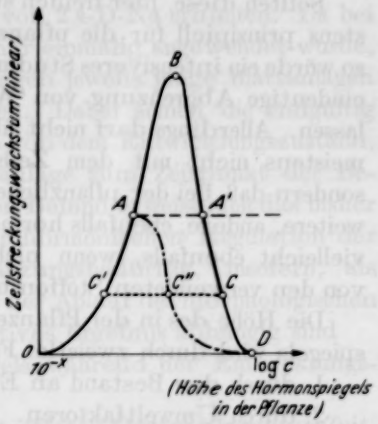


Abb. 1. Abhängigkeit des Zellstreckungswachstums einer Pflanze von ihrem Hormongehalt

1. die Normalform (Wuchsform A),
2. die gesteigerter Zellstreckung entsprechende Form (B),
3. die vermindertem Hormongehalt entsprechende Form (C′),

wobei diese letztere Form sowohl durch Zufügung von Wuchsstoff (C) wie auch durch Hemmstoff (C″) erzielt werden kann.

Die Veränderung der Höhe des Hormonspiegels gibt somit die Möglichkeit, eine Pflanze zur Entfaltung ihres gesamten, zwischen den Hormonniveaus B und D liegenden Formenreichtums zu veranlassen, der normalerweise nicht zur Entwicklung gelangen kann, weil die Pflanze von Natur aus auf ihr spezifisches Hormonniveau A festgelegt ist. Dabei entstehen zwischen B und A bzw. zwischen B und A′ jene Formen, welche größerem Wuchsstoffreichtum als dem normalen entsprechen,

zwischen A′ und D aber solche Formen, welche geringerem Wuchsstoffgehalt (gegenüber dem normalen) entsprechen. Zuführung von Wuchsstoffen (etwa durch Besprühung der Pflanzen) kann daher zu wuchsstoffreicheren Formen führen (A bis B), wenn nur geringe Konzentrationen verwendet werden, aber zu Wuchsstoffmangelformen (A′ bis D), wenn durch zu hohe verwendete Konzentrationen infolge fast völliger Hemmung trotz Überdosierung ein „Mangel"-Effekt eintritt. Zuführung von Hemmstoffen aber kann in jedem Falle *nur* zu Mangelformen (A′ bis D) führen.

Sollten diese, hier freilich stark vereinfachten, Überlegungen wenigstens prinzipiell für die pflanzlichen Entwicklungsvorgänge zutreffen, so würde ein intensiveres Studium von Hemmstoffwirkungen eine spätere eindeutige Abgrenzung von Wuchsstoffwirkungen möglich erscheinen lassen. Allerdings darf nicht übersehen werden, daß wir es im Versuch meistens nicht mit dem Zellstreckungssystem *allein* zu tun haben, sondern daß bei der pflanzlichen Formbildung außer diesem auch noch weitere, andere, ebenfalls hormongesteuerte Systeme mitwirken, welche vielleicht ebenfalls, wenn nicht primär, so doch vielleicht sekundär, von den verwendeten Stoffen beeinflußt werden.

Die Höhe des in der Pflanze natürlicherweise vorhandenen Hormonspiegels wird durch zweierlei Faktoren bestimmt:

1. durch den Bestand an Erbmasse,
2. durch Umweltfaktoren.

Der Bestand an Erbmasse (Genbestand und protoplasmatische Faktoren) kann durch Mutation geändert werden, es ist daher verständlich, daß mutierte Rassen sich in ihrem hormonbedingten Habitus unterscheiden, wenn die Höhe des Hormonspiegels durch die Mutation verändert worden ist. Andererseits ist es verständlich, wenn bestimmte Umweltfaktoren, welche die Höhe des Hormonspiegels zu beeinflussen geeignet sind, auch die morphologischen Merkmale der Pflanzen zu verändern vermögen.

Die Erbmasse im Zusammenhang mit dem zeitgestaltlichen Verlauf von Entwicklungsvorgängen sowohl wie auch regelmäßig sich verhaltende (periodische) Umweltsverhältnisse können der Höhe des Hormonspiegels eine bestimmte Form in ihrem zeitlichen Verlauf aufzwingen, d. h. eine bestimmte Aufeinanderfolge verschiedener Höhen des Hormonspiegels bewirken. Geht man nun davon aus, daß, gemäß Abb. 1, verschiedene Höhen des Hormonspiegels zu verschieden geformten Entwicklungsergebnissen (beispielsweise zu verschiedenen Blattformen) führen, so müßte eine solche Pflanze auch eine erbliche oder (bzw. und) von bestimmten Umweltseinflüssen abhängige Aufeinanderfolge verschiedener Blattformen aufweisen. Dies ist bei vielen Pflanzen tatsächlich der Fall. Erblich festgelegte Blattfolgen morphologisch

stark verschiedenartiger Blätter liegen vor beispielsweise bei *Senecio vulgaris*, *Capsella bursa pastoris* oder *Berberis vulgaris*, während umweltbedingte Blattform-Modifikationen z. B. bei zahlreichen Wasserpflanzen mit Luftblattformen beobachtet werden. Daß tatsächlich die Blattfolge durch Zuführung von Zellstreckungswuchsstoffen von außen her verändert werden kann und die Entstehung von Blattformen erzwungen werden kann, welche normalerweise nicht vorkommen, zeigten die Ergebnisse von Linser, Frohner und Kirschner (1955) bei *Erodium cicutarium*, bei welchem sie mit fast 100%igem Erfolg eine morphologisch stark veränderte Blattfolge durch einmalige Besprühung der Versuchspflanzen mit geringen Mengen von 2,4-D-Na erhielten. Da bei diesen Versuchen der Morphoregulator nur einmalig angewendet wurde, trafen die aufgesprühten Wuchsstoffmengen jeweils junge Blattanlagen in verschiedenen Entwicklungszuständen. Dabei schien die endgültig entstehende Blattform abhängig zu sein von dem Entwicklungszustand, in welchem sich die betreffende Blattanlage zum Zeitpunkt der Besprühung befand. Im Hinblick auf diesen Befund erweist sich das bisher entworfene hypothetische Bild von der hormonischen Regulation der Morphogenese also zunächst als ergänzungsbedürftig, insofern, als offenbar angenommen werden muß, daß der Ablauf des morphologischen Entwicklungsvorganges und sein formatives Ergebnis abhängig sind

a) von der Höhe des Hormonspiegels während der Entwicklungsdauer; aber auch

b) vom Entwicklungszustand der betroffenen Organanlage zum Zeitpunkt der Veränderung der Höhe des Hormonspiegels.

Wir glauben nicht, daß die hier diskutierten Vorstellungen über den Mechanismus der hormonalen Steuerung der Formbildungsvorgänge in dieser einfachen Form zutreffend sein können. Vielmehr ist anzunehmen, daß noch mehrere, hier nicht berücksichtigte Faktoren mit wirksam sind. Es dürfte aber zweckmäßig sein, zunächst die hier vorgebrachten Überlegungen an experimentellem Material zu prüfen, da der experimentelle Zugang hierzu gegenwärtig offen liegt.

Experimenteller Teil

Bei *Erodium cicutarium* handelt es sich um eine — vorwiegend einjährige — Pflanze, die in manchen Gegenden zu den häufigen Ackerunkräutern zählt. Der Haupttrieb wird zunächst als Kurzsproß mit Blattrosette ausgebildet, bis er sich mit Eintritt der Blühfähigkeit zu einem Langsproß auswächst, während in den grundständigen Achseln der jüngsten Rosettenblätter Seitenzweige erscheinen, und er selbst durch den Blütenstand abgeschlossen wird. Die Blütenbildung unterbleibt, wenn die Pflanze gezwungen wird, in der spätherbstlichen Kurztagsperiode zu wachsen. Die Winkel zwischen je zwei Folgeblättern

der Blattrosette sind nicht völlig konstant und betrugen bei dem uns vorliegenden Versuchsmaterial stets mehr als 90 und weniger als 180°. Im allgemeinen ist die Blattfolge rechtswendend (im Sinne des Uhrzeigers), es wurden jedoch auch vereinzelte Exemplare gefunden, welche linkswendend waren. Die Blätter besitzen mäßig behaarte, unpaar gefiederte Spreiten. Die Fiedern sind gelappt oder gekerbt bis fiederschnittig; die Zahl der Fiederpaare, die mit dem Alter der Pflanzen ansteigt, beträgt (ohne Endfieder) 1—6.

Wie aus früheren Versuchen hervorging (Linser, Frohner und Kirschner 1955), treten bei der Behandlung von *Erodium cicutarium* mit stark verdünnten Sprühlösungen von 2,4-D-Na in Konzentrationen zwischen 10^{-2} und 10^{-3}% sehr regelmäßig neuartige Blattformen auf. Dabei erscheinen nach einer mehrere Tage andauernden Wachstumshemmung bzw. Welkeschädigung, nach einigen Wochen mit neu einsetzendem gesundem Wachstum nacheinander statt der charakteristischen Normalform (s. Abb. 9) folgende abweichende Blattformen:

1. Blätter, welche unter Beibehaltung der normalen Grundform Fiedern mit verschmälerten Lappen aufweisen („Petersilienform").

2. Ganzrandige, abgerundete Fiedern, beim basalen Fiedernpaar beginnend, als Übergangsform zu 3.

3. Umwandlung der selbständig bleibenden Fiedern in flach-tütenförmige „Öhrchen" oder „Trichter".

4. Zusammenfassung der Fiedern in *eine* ungefiederte, im basalen Teil meist gekerbte, im apikalen Teil ganzrandige und am Rand eingebogene Spreite (mitunter Verwachsungen zweier solcher Blätter von der Basis mehr oder weniger stark apikalwärts fortschreitend).

5. Wiederauftreten der ursprünglichen Fiedern über mehrere Übergangsformen.

Zu allen aufgezählten Grundtypen sind jeweils entsprechende Misch- und Übergangsformen möglich und auch beobachtet worden.

Die nun vorliegenden Versuche dienten dem näheren Studium des zeitlichen Ablaufes und des Entstehens dieser Erscheinungen; vor allem sollten sie zur angewandten Konzentration den Zeitpunkt oder die Zeitdauer und den Ort ihrer Wirkung in bezug auf eine bestimmte morphologische Veränderung festlegen, wobei hier Zeit und Ort relativ nach den physiologischen Entwicklungsstadien der Pflanze bzw. der einzelnen Blätter zu verstehen sind. Beispielsweise sollte der Zeitpunkt des Entstehens der Blattanlage am Vegetationspunkt bzw. das Entwicklungsstadium der Blattanlage zum Zeitpunkt der Spritzung Berücksichtigung finden bzw. ermittelt werden. Gleichzeitig sollten die Versuche näheren Einblick in den Entwicklungsablauf normaler unbehandelter Pflanzen gewähren. Um einen Gesamtüberblick über die Verhältnisse der Blattgrößen zum Spritztermin und im Verlaufe der weiteren Entwicklung

zu ermöglichen, sollte auf die ausführliche (einmalige) Wiedergabe der diesbezüglichen Tabellen trotz deren beträchtlichem Umfang nicht verzichtet werden, um so mehr, als sie grundsätzliche Tatsachen quantitativ zum Ausdruck bringen, welche — wenn auch in veränderten Größen — generell für morphogenetische Vorgänge gültig sein dürften. Eine einmalige, ein Beispiel betreffende ausführliche Darstellung des Zahlenmaterials erscheint daher gerechtfertigt.

Versuch I (10. 2.—9. 5. 56)

Versuchsplan und Durchführung

Die Auswertung der Versuchspflanzen sollte in zweifacher Weise erfolgen.

I. Morphologische Feststellungen:

a) Festlegung der Ordnungszahl der gebildeten Laubblätter und ihre Gesamtzahl an der Pflanze bei allen Versuchsgliedern;

b) Festlegung des Zeitpunktes der Entstehung der einzelnen Blätter (mikroskopisch) im unbehandelten Bestand;

c) Beschreibung der nach Wuchsstoffbehandlung aufgetretenen Blattanomalien;

d) Prüfung des Einflusses des Wuchsstoffes auf die Blühwilligkeit.

II. Gewichtsanalytische Feststellungen:

Festlegung der Wachstumsgröße der Blätter zum jeweiligen Erntezeitpunkt in mg Trockensubstanz (TS)/Blatt.

Die Festlegung der Ordnungszahl erfolgte ab 16. 2. 56, alle übrigen Beobachtungen wurden ab 14. 3. 56 durchgeführt. Infolge des Absterbens der Blattkreise mußte die letzte Ernte auf den 9. 5. 56 festgesetzt werden. Die eigentliche Beobachtungsdauer betrug daher 57 Tage.

Als Versuchsglieder wurden folgende Behandlungsarten gewählt:

1. Kontrolle unbehandelt 126 Pflanzen (7 Kistchen),
2. am 21. 3. 56 mit 10^{-3}% 2,4-D-Na gesprüht, 18 Pflanzen (1 Kistchen),
3. am 14. 3. 56 mit $0{,}5 \cdot 10^{-2}$% 2,4-D-Na gesprüht, 18 Pflanzen (1 Kistchen),
4. am 14. 3. 56 mit 10^{-2}% 2,4-D-Na gesprüht, 18 Pflanzen (1 Kistchen).

Aus den am 10. 2. 56 angebauten und am 16. 2. pikierten Pflanzen wurden 10 Kistchen zu je 18 Pflanzen = 180 Pflanzen gewonnen[1]. Die (unbehandelte) Kontrolle mit 126 Pflanzen lieferte das Material für laufende Aberntungen, die mit dem Zeitpunkt der Spritzung am 14. 3. einsetzten und in Abständen von einer Woche durchgeführt wurden, um den jeweiligen Entwicklungsstand der Blätter zu verfolgen. Jede Ernte umfaßte 10 Pflanzen und wurde sowohl hinsichtlich der Blattgewichte als auch hinsichtlich des Entstehungszeitpunktes der Blätter ausgewertet. Insgesamt ergaben sich 9 Ernten in der Zeit vom 14. 3.—9. 5. Bei der 9. und letzten Ernte wurden auch die wuchsstoffbehandelten Reihen abgeerntet. Zur Erfassung der Blattanomalien wurde vor Beginn des Absterbens der ältesten Blätter am 10. 4. Herbarmaterial von sämtlichen Gruppen gewonnen. Die zweite Entnahme für Herbarzwecke erfolgte zu Versuchsende[2].

Um jederzeit die Ordnungszahl jedes einzelnen Blattes genau bestimmen zu können (was mit wachsender Blattzahl und beginnendem Absterben der äußersten

[1] Die Heranzucht erfolgte in normaler Gartenerde unter Glashausbedingungen bei stärkster Lüftung, ab 20. 2. im Kalthaus.

[2] Das gesammelte Herbar-Material von Blattfolgen behandelter und unbehandelter *Erodium cicutarium*-Pflanzen ist im Archiv des Biologischen Laboratoriums der Österreichischen Stickstoffwerke AG Linz einzusehen.

Blattkreise der Rosette immer schwieriger, ja schließlich ohne Hilfsmittel unmöglich wird), entschieden wir uns nach mehrfachen Vorversuchen für den in Abb. 2 dargestellten Celluloidring, der jedem 2. Blatt, nachdem es seine Endgröße annähernd erreicht hatte, angehängt wurde. Die Kennzeichnung mit diesen Ringen, auf welchen die Ordnungszahl des Blattes ersichtlich ist, erfolgte laufend. Die Vorzüge dieses Verfahrens: leichte Herstellbarkeit, keine Verletzungen des Blattwerks, Unzerstörbarkeit besonders durch Gießwasser, geringstes Gewicht und keine Wachstumsstörungen.

Die Ernten wurden wie folgt durchgeführt: Je 10 Pflanzen wurden der Kultur entnommen und vorsichtig abgewaschen. Nach flüchtigem Abtrocknen wurden nun sämtliche Blätter der Ordnungszahl 1, das ist das erste Blatt nach den Keimblättern (oder der niedersten noch vorhandenen) gemeinsam geerntet, dann ebenso das zweite Blatt usw. Daß sich in der Entwicklung zwischen den Individuen stets Einzelschwankungen ergeben, ist selbstverständlich. Im Bereich der jeweils *jüngsten* Blätter mit steigender Ordnungszahl war die Zahl der geernteten Blätter von 10 Pflanzen kleiner als zehn (bis zu 0 abfallend); in gleicher Weise nahm die Zahl der geernteten Blätter im Bereich der jeweils ältesten infolge Absterbens und Abfaulens mit sinkender Ordnungszahl bis auf 0 ab. Blätter unter $1^1/_2$ mm Länge wurden aus technischen Gründen nicht mehr gewichtsanalytisch erfaßt, jedoch die Ordnungszahl bis zur jüngsten Blattanlage der Vegetationsspitze im Binokular bestimmt. Zur Bestimmung der Frischgewichte wurden die geernteten Blätter sofort in feuchte Kammern überführt, wo sie bis zur Wägung, die möglichst schnell durchgeführt wurde, verblieben. Infolge der geringen Größen und Einzelgewichte — insbesondere der Trockensubstanz — war es nötig, alle 10 Einzelpflanzen einer Ordnungszahl und Ernte zusammen zu behandeln und auf eine Berechnung des mittleren Fehlers zu verzichten.

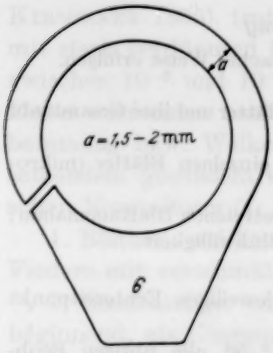


Abb. 2. Celluloidring zur Markierung der Blattfolge der nacheinander heranwachsenden Blätter. Innerer Durchmesser 5 mm; Dicke 0,5 mm

Etwa 9 Wochen nach dem Anbau erschien ziemlich gleichmäßig bei allen 3 Versuchsgliedern im Herzen der Rosette der Blütenstand. Die Auszählung der Blütentriebe erfolgte (am 9. 5.) bei Versuchsende so, daß die Zahl der erblühten und noch nicht erblühten Triebe bei „behandelt" in Vergleich gesetzt wurde.

In allen Ergebnissen ist 10^{-3}% mit der Kontrolle gesondert zu vergleichen, ein unmittelbarer Vergleich mit 10^{-2}% und $0{,}5 \cdot 10^{-2}$% entfällt infolge ungleichen Spritztermins.

Ergebnisse

1. Morphologische Beobachtungen. *a) Die Gesamtzahl der Laubblätter* (Durchschnitt aus den beobachteten Extremwerten) betrug:

Kontrolle	10^{-3} %	$0{,}5 \cdot 10^{-2}$ %	10^{-2} %
23,5	25	18,5	18,5

(Hier wurden lediglich die Blätter der Grundrosette des Hauptsprosses gezählt; die Hochblätter des Blütenstandes und die Blätter der Seitenachsen wurden nicht berücksichtigt.)

b) Die Entstehungszeiten (Durchschnitt aus 10 Pflanzen):

14. 3. 56 Ernte 1: jüngstes im Vegetationskegel bereits als Anlage bei 10facher Vergrößerung erkennbares Blatt = Ordnungszahl 10 bis 11,

21. 3. 56 Ernte 2: jüngstes im Vegetationskegel bereits als Anlage erkennbares Blatt = Ordnungszahl 14 bis 15,

28. 3. 56 Ernte 3: jüngstes im Vegetationskegel bereits als Anlage erkennbares Blatt = Ordnungszahl 20,

4. 4. 56 Ernte 4: jüngstes im Vegetationskegel bereits als Anlage erkennbares Blatt = Ordnungszahl 24—25.

Durch die Interpolation erhält man daher folgende Übersicht für die Zeitpunkte, zu welchen die einzelnen Blattanlagen der Blattfolge im Vegetationskegel bei mikroskopischer Beobachtung als solche erkennbar wurden (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Entstehungszeitpunkt der Laubblätter ab Blatt 10 (Blätter 2—9 liegen etwa zwischen dem 14. 2. und 13. 3).*

Blatt-Nr.	Entstehungsdatum
10, 11	14. 3. (Ernte)
12	15. 3.
13	17. 3.
14	19. 3.
15	21. 3. (Ernte)
16	22. 3.
17	24. 3.
18	25. 3.
19	27. 3.
20	28. 3. (Ernte)
21	30. 3.
22	1. 4. soweit zur
23	2. 4. Entwicklung
24	3. 4. gekommen
25	4. 4. (Ernte)

c) Die durch 2,4-D-Na entstandenen *neuen Blattformen* sowie ihre Entstehungsverhältnisse sind aus der Übersicht der Abb. 9 zu entnehmen[1].

Zum Zeitpunkt der Spritzung mit 2,4-D-Na $0{,}5 \cdot 10^{-2}$%, 10^{-2}% am 14. 3. war bereits das 11. Blatt in der Anlage vorhanden; ab dem 5. Blatt traten morphologische Veränderungen bis einschließlich Ordnungszahl 16 ein. Der Entstehungszeitpunkt von Nr. 5 ist unbekannt, dürfte jedoch unter Berücksichtigung des Anbautermins um den 1. 3. gelegen sein; die Entstehung des 16. Blattes wurde durch Interpolation mit etwa 22. 3. errechnet. Daraus geht hervor, daß zum Zeitpunkt der Spritzung bei $0{,}5 \cdot 10^{-2}$% und 10^{-2}% noch 6—7 aufeinanderfolgende Blätter, die in verschiedenen Größen bereits vorhanden waren, und 4—5 Blätter, die im Laufe der der Spritzung folgenden Woche am Vegetationsscheitel zur Anlage gelangten, morphologisch beeinflußt wurden.

Das größte Trockengewicht, bei dem gerade noch eine Wirkung bei der Spritzung erreicht werden konnte (Blatt 5), betrug 0,88 mg, d. i. 3,96% des Endgewichtes (22,45 mg) des gleichen Blattes der unbehandelten Reihe.

[1] Siehe auch Abb. 4 bis 8 sowie Herbarblätter zur Morphoregulation von *Erodium cicutarium* im Archiv des Biologischen Laboratoriums.

Bei der Ausbildung der einzelnen Anomalien und der dazwischen liegenden Mischformen war es auffällig, daß bei Auftreten der jeweils nächsten Form (z. B. Öhrchen bzw. Trichterbildung) das unterste Fiederpaar stets zuerst davon erfaßt wurde und dann in den nächsten Blättern die Neuform mit steigender Ordnungszahl schrittweise nach oben „wanderte"; lediglich die unpaare Endfieder wurde häufig nicht mehr eindeutig von der Umwandlungstendenz erreicht. So wurde die Blattform *stets von unten her* neu um- oder rückgeformt. Der Typ der ungeteilten Spreite prägte sich klar bis in die Spitze aus, wobei die basale Spreitenhälfte meist stark gekerbt, die apikale Hälfte ganzrandig, jedoch mit nach unten gebogenem Blattrande ausgebildet wird.

Aus der zeitlichen und räumlichen Folge der Neuformen an den Stielen kann geschlossen werden,

1. daß das Blatt und seine Fiedern von der Spitze fortschreitend nach unten zur Blattbasis bzw. im Diagramm von innen nach außen angelegt werden, also im Gegensatz zur Vegetationsspitze der Sprosse selbst, die von unten nach oben bzw. von außen nach innen in der Entwicklung fortschreitet. Je weiter unten sich also eine Fieder befindet, um so jünger scheint diese ihrer Anlage nach zu sein, und desto eher ist es möglich, daß eine Änderung des Wuchsstoffspiegels in der Pflanze an dieser Fieder zur Wirkung kommt.

2. Die Blattspitze (Endfieder) scheint eine geringere morphologische Variabilität als die weiter basal gelegenen Anlagen von Blattfiederchen zu besitzen.

d) Blühwilligkeit. Der bei Beendigung des Versuches noch vorliegende restliche Pflanzenbestand wurde zu einer Auszählung über die Blühwilligkeit der Versuchsgruppen herangezogen. Das Ergebnis zeigt, daß die Konzentration 10^{-3}% die Ausbildung der Blüten beschleunigte, die Konzentration $0{,}5 \cdot 10^{-2}$% und 10^{-2}% hemmte sie dagegen. Im Knospenstadium befanden sich zum Zeitpunkt der Auszählung sämtliche Pflanzen aller Versuchsgruppen. Als blühend wurden jene Pflanzen bezeichnet, welche mindestens eine Blüte geöffnet oder abgeblüht aufwiesen.

Die Auszählung vom 8. 5. 56 ergab:

Unbehandelte Kontrolle (aus 37 Pflanzen)	38% in Blüte
10^{-3}% 2,4-D (aus 15 Pflanzen)	73% in Blüte
$0{,}5 \cdot 10^{-2}$% 2,4-D (aus 12 Pflanzen)	0% in Blüte
10^{-2}% 2,4-D (aus 12 Pflanzen)	0% in Blüte

2. Gewichtsanalytische Ergebnisse (Festlegung der Wachstumsgröße zum jeweiligen Erntezeitpunkt). Die Mittelwerte der Einzelgewichte für Blätter aller Ordnungszahlen und Ernten sind aus den nachfolgenden Tabellen 2 und 3 für die Kontrolle und die einzelnen Behandlungsarten zu entnehmen.

Der Wachstumsverlauf jedes Blattes folgt der typischen S-Form, wie sie für alle biologischen Wachstumsprozesse, die nicht von Einflüssen der Jahreswitterung usw. überlagert bzw. gestört sind, charakteristisch ist. Die Intensität und die schließliche Endgröße (Maximum) sind jedoch, wie die Tabellen 2, 3 und 5 zeigen, sehr verschieden. Die theoretischen Wachstumskurven der gesamten Blattfolge sind der Abb. 3 in schematischer Darstellung zu entnehmen.

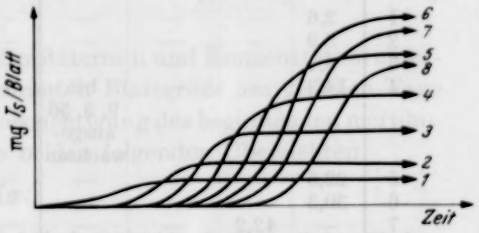


Abb. 3. Beispiel für den theoretischen Wachstumsverlauf einer Blattfolge, schematisch. 6 = Blatt mit optimaler Entwicklung; 1—8 = Blattfolge

Die Verabreichung von 2,4-D hat auf das Wachstum der Blätter in fast allen Konzentrationen hemmend gewirkt, nur zwischen dem 15. und 17. Blatt werden bei 10^{-2}%, welche Konzentration anfänglich am stärksten hemmend wirkte, die Werte der Kontrolle fast erreicht, bei Blatt 17 sogar etwas überschritten. Aus technischen Gründen wurden die behandelten Reihen nur einmal am 9. 5. zu Versuchsende abgeerntet. Ob die

Tabelle 2. *Blattordnungszahlen- und Einzelgewichte (Kontrolle, unbehandelt)*

Ordnungszahl des Blattes	Trockensubstanz in mg/Blatt am:								
	14. 3. 56	21. 3. 56	28. 3. 56	4. 4. 56	11. 4. 56	18. 4. 56	25. 4. 56	2. 5. 56	9. 5. 56
1	1,89	1,90	2,31	2,03	2,61	0,83	0,23	0,37	—
2	3,43	3,69	4,64	4,74	5,93	4,29	4,08	1,40	—
3	3,77	4,43	6,34	6,44	8,18	5,32	5,37	3,34	—
4	3,12	7,60	10,50	10,73	14,29	10,00	10,36	6,37	—
5	0,88	7,38	14,35	15,60	22,45	19,89	18,22	10,50	—
6	0,19	5,55	16,05	20,55	30,81	29,12	28,88	17,45	—
7	0,06	2,70	15,95	26,73	40,93	42,22	40,27	33,03	—
8	—	0,82	12,75	28,45	46,44	53,38	53,04	52,76	2,02
9	—	0,20	9,44	28,37	51,64	59,22	62,48	63,30	6,19
10	—	0,10	5,45	27,57	52,02	63,60	69,60	77,01	8,53
11	—	0,02	3,09	23,14	46,90	58,76	74,57	78,65	6,97
12	—	—	1,34	15,82	37,29	48,20	69,46	75,63	8,41
13	—	—	0,68	9,90	27,32	42,12	67,29	72,90	7,99
14	—	—	0,30	5,20	18,23	35,13	57,71	66,48	7,74
15	—	—	0,09	2,81	11,30	28,90	54,03	62,56	6,84
16	—	—	0,07	1,33	6,23	21,93	48,77	58,40	6,88
17	—	—	—	0,65	3,07	15,54	38,88	50,42	6,45
18	—	—	—	0,23	1,47	10,65	33,58	46,80	5,99
19	—	—	—	0,06	0,62	5,68	25,11	38,80	4,98
20	—	—	—	0,01	0,46	2,65	18,44	33,35	4,34
21	—	—	—	—	0,21	1,36	13,33	35,45	3,68
22	—	—	—	—	0,00	0,87	09,77	19,33	—

Gewichtsverluste nur eine Wachstumsverspätung darstellen oder auch eine verkleinerte Endform erwarten lassen, konnte hier nur für Blatt 9 entschieden werden, das in den 3 Konzentrationen nur zwischen 34 und

Tabelle 3. *Übersicht über die Blattordnungszahl und Höchstgewichte von Nr. 1—9 (vom 11. 4.—2. 5. 56) sowie über die Einzelendgewichte von 9—22 für Kontrolle, 10^{-3}, 10^{-2}, $0{,}5 \cdot 10^{-2}$% (vom 9. 5. 56).* (Vergleiche auch Tabelle 8)

Ordnungszahl des Blattes	Kontrolle unbehandelt in mg/Blatt				10^{-3} %		$0{,}5 \cdot 10^{-2}$ %		10^{-2} %	
	11.4.56	18.4.56	2. 5. 56	9. 5. 56	9. 5. 56 mg/Bl.	= % d. K.	9. 5. 56 mg/Bl.	= % d. K.	9. 5. 56 mg/Bl.	= % d. K.
1	2,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	5,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	8,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	14,3	—	—	bis 9. 5. 56 ausgewachsen	—	—	—	—	—	—
5	22,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	30,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	42,2	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	53,4	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	63,3	61,9	26,3	42,48	26,7	43,13	21,6	34,24
10	—	—	—	85,3	41,4	48,51	39,6	46,42	29,5	34,58
11	—	—	—	—	50,3	—	49,6	—	40,0	—
12	—	—	—	84,1	62,6	74,43	43,0	51,12	44,9	53,38
13	—	—	—	79,9	61,1	76,47	42,4	53,06	46,0	57,57
14	—	—	—	77,4	57,0	73,64	43,4	56,01	44,9	58,01
15	—	—	nicht ausgewachsen am 9. 5.	68,4	53,2	77,77	43,7	63,88	64,8	94,73
16	—	—	—	68,8	51,2	74,41	46,2	67,15	60,6	88,08
17	—	—	—	64,5	41,9	64,96	41,5	64,34	70,6	109,45
18	—	—	—	59,9	38,7	64,61	35,1	58,59	49,2	82,13
19	—	—	—	49,8	37,1	74,45	—	—	28,2	56,62
20	—	—	—	43,4	35,8	82,48	33,8	77,88	18,7	43,08
21	—	—	—	—	35,60	—	—	—	—	—
22	—	—	—	—	36,45	—	—	—	—	—

43% der Kontrolle erreichen konnte. Die älteren Blätter waren zum Zeitpunkt der Aberntung der behandelten Reihen bereits abgestorben, die Blätter vom 10. aufwärts hatten ihr Höchstgewicht nicht erreicht. Eine umfassendere Antwort in dieser Hinsicht bleibt späteren Versuchen vorbehalten.

Im ganzen nimmt der Einfluß des Wuchsstoffes auf Gewicht und Größe der Blätter mit steigender Ordnungszahl zunächst noch zu, dann ab, d. h., daß mindestens ab Blatt 12 im weiteren Verlauf des Versuches die Blätter um so stärker verkleinert wurden, je älter sie waren. Unterhalb der Ordnungszahl 12 dürfte auch der gewichtsmäßige Wuchsstoffeinfluß mit steigender Ordnungszahl ab Blatt 5 zunehmen, jedoch fehlen aus den oben angeführten Gründen für diesen Entwicklungsabschnitt die Wägeergebnisse der behandelten Reihen. Jedenfalls erreichte der gewichtsmäßige Einfluß (Hemmung) etwas früher das Maximum als die morphologischen Veränderungen, die z. B. bei Blatt 9

und 10^{-3}% das erstemal nachweisbar ist, während die Größe im gleichen Falle gewichtsmäßig nur mehr 42,48% der unbehandelten Kontrolle erreicht. Die entsprechenden Werte der Höchst- bzw. Endgewichte aller Aberntungen sowie ihr Prozentanteil bei den behandelten Reihen gegenüber der Kontrolle ist aus der Tabelle 3 zu entnehmen.

Die Gewichte der einzelnen Blätter zum Zeitpunkt der Spritzung sind aus Tabelle 5 zu entnehmen.

Den Zusammenhang zwischen Spritztermin und Konzentration einerseits und der gewichtsmäßig bestimmten Blattgröße am gleichen Tage andererseits vermitteln unter Berücksichtigung des beginnenden morphologischen Wuchsstoffeinflusses die beiden folgenden Übersichten:

a) Versuch mit 10^{-2}% 2,4-D-Na:

Tabelle 4

Ordnungszahl des Blattes	TS zum Zeitpunkt der Spritzung am 14. 3. in mg	Endgewicht des Blattes	% vom Endgewicht d. Kontrolle	Morphologische Anomalie bei 10^{-2}% 2,4-D-Na
1	1,89	2,61	72,41	—
2	3,43	5,93	57,84	—
3	3,77	8,18	46,09	—
4	3,12	14,29	21,83	—
5	0,88	22,45	*3,96*	Unterstes Fiederpaar abgerundet
6	0,19	30,31	0,63	Unterstes Fiederpaar abgerundet
7	0,06	42,22	0,14	Fieder in Trichter umgewandelt
8	Blätter unter Wägegröße!			Übergang zur ungefiederten Spreite
9				
10				
11				

Unter dem „Endgewicht" ist das größte Gewicht zu verstehen, das an einem der neun Erntetermine bei dem betreffenden Blatt (Ordnungszahl) erzielt wurde. In % des Endgewichts wird das jeweilige Tagesgewicht des wachsenden Jungblattes zum Zeitpunkt der Spritzung angegeben. Dieser Wert wurde als „gewichtsanalytischer Grenzwert" bezeichnet, wenn er gerade noch die Herbeiführung einer morphologischen Umwandlung zuließ.

Der „gewichtsanalytische Grenzwert" ist also ein Maß für das physiologische Alter eines Blattes zu einem bestimmten Zeitpunkt, ausgedrückt als Tagesgewicht in % des optimalen Endgewichtes des ausgewachsenen Blattes.

Von den 7 zum Zeitpunkt der Spritzung erfaßbaren Blättern waren Nr. 5, 6 und 7 durch den zugeführten Wuchsstoff bei $0{,}5 \cdot 10^{-2}$% und 10^{-2}% morphologisch verändert worden. Der gewichtsanalytische Grenzwert liegt hier bei 3,96% des Endgewichtes (Höchstgewichtes) des fertigen Blattes. Obwohl infolge der nicht kontinuierlich, sondern in Abständen

Tabelle 5. *Blattentwicklung und Blattform bei Erodium cicutarium nach Behandlung mit 2,4-D-Na*

Ordnungszahl des Blattes	Entstehungsdatum	TS am 21. 3. in % des Endgew. d. Kontrolle	Spritzung 2,4-D-Na 10^{-2} % am 21. 3. 56		TS am 14. 3. in % des Endgew. d. Kontrolle	Spritzung 2,4-D-Na $0{,}5 \cdot 10^{-2}$ % am 14. 3. 56		Spritzung 2,4-D-Na 10^{-2} % am 14. 3. 56		Anmerkung
			Blattform	Erntegewicht der Anomalie in % der Kontrolle		Blattform	Erntegewicht der Anomalie in % der Kontrolle	Blattform	Erntegewicht der Anomalie in % der Kontrolle	
1—4						normale Blattform		normale Blattform		
5		32,87	normale Blattform, s. auch Tabelle 1	vor der Ernte abgestorben	3,96	unterste Fiedern abgerundet	vor der Ernte abgestorben	unterste Fiedern abgerundet oder Übergang zu Blatt Nr. 7	vor der Ernte abgestorben	
6		18,31			0,63					
7		6,40			0,14	zwei bis mehrere Fieder in Trichter (Öhrchen) verwandelt		zwei bis mehr Fiederpaare in Trichter verwandelt		
8		1,53								
9		0,32	Fiederlappen verschmälert	42,5			43,1	wie 8 oder Übergang zur ungefiederter Spreite	34,2	
10		0,12	Fiederlappen stark verschmälert = „Petersilienform“	48,5	am 14. 3. noch nicht vorhanden, bzw. noch nicht wägbar	Übergang zur ungefiederten Spreite	46,4	ungeteilte, ungefiederte Spreite, basal gekerbt, apikal ganzrandig umgebogen	34,6 — 53,4 —	
11	14. 3.									
12		am 21. 3. noch nicht vorhanden, unter Wägegröße	wie vor, jedoch unterste Fieder = Trichter	74,4		ungefiederte Spreite basal gekerbt, apikal ganzrandig umgebogen	51,1			

13							57,6	} bei 15/16 (0,5 $\times 10^{-2}$) und bei 14/16 (10^{-2}%) sind Verwachsungen häufig
14							58,0	
15	21. 3.						94,7	
16			74,4	Spreite grob geteilt bis gelappt	52,1		88,1	
				Übergang zu gelappten Normalfiedern	63,9	Übergang zu Normalfiedern	109,5	
17		Mischung zwischen „Petersilienform“ und Trichterfiedern, jedoch letztere zwei bis mehr Paare umfassend	76,5					
18			73,6					
19			77,8					
20	28. 3.							
21								
22								
23								
24	24. 4.							
		normale Blattform, jedoch etwas kleiner als Kontrolle	65,0	normale Blattform, jedoch Zahl der Fiederpaare etwas kleiner als Kontrolle	67,1	normale Blattform, jedoch etwas herabgesetzt. Blattfläche verkleinert	82,1	
			64,6		64,3		56,1	
			74,5		58,6		43,1	
			82,5		77,9			

erfolgenden Bildung von Blattanlagen über die Zwischenwerte zu einem bestimmten Erntezeitpunkt nichts ausgesagt werden kann, läßt doch das geringe Ausmaß der morphologischen Veränderungen von Blatt 5 erkennen, daß wir uns mit dessen Gewicht in der Nähe des Grenzwertes befinden.

Im vorliegenden Fall war also bei Blättern mit einem Durchschnittsgewicht von über 3,96% oder rund $^1/_{25}$ des Endgewichtes zum Zeitpunkt der Spritzung ein morphologischer Wuchsstoffeffekt nicht mehr nachweisbar. Da angenommen werden muß, daß bei derart jugendlichen Blättern während des Weiterwachsens noch reichlich Wuchsstoff aufgenommen werden kann, ist offenbar das durch die Blatt- bzw. Fiederanlagen vorbestimmte Wachstumsziel nicht mehr modellierbar und das um so weniger, je näher der betreffende Gewebeteil der Blattspitze liegt bzw. um so älter er ist. Dies zeigt, daß Wuchsstoffe nur während einer bestimmten Entwicklungsphase in Differenzierungsvorgänge gestaltend eingreifen können, und *daß es von dem von einer Blattanlage bereits erreichten Grad seiner Differenzierung bzw. Organisation abhängt, ob und inwieweit eine Erhöhung des Wuchsstoffspiegels in der Pflanze oder von außen her zugefügter Wuchsstoff noch in die Differenzierungs- bzw. morphogenetischen Entwicklungsvorgänge einzugreifen vermag.*

b) Versuch mit 10^{-3}% 2,4-D-Na:

Tabelle 6

Blatt Nr.	TS zum Zeitpunkt der Spritzung am 21. 3. in mg	Endgewicht des Blattes in mg	% vom Endgewicht	Morphologische Anomalie bei 10^{-3} 2,4-D-Na
1	1,9	2,61	72,8	—
2	3,69	5,93	62,23	—
3	4,43	8,18	54,16	—
4	7,60	14,29	53,18	—
5	7,38	22,45	32,87	—
6	5,55	30,31	18,31	—
7	2,70	42,22	6,40	—
8	0,82	53,38	1,52	—
9	0,20	63,30	0,32	Fiederlappen verschmälert, Beginn der „Petersilienform“
10	0,10	85,30	0,12	„Petersilienform“

Hier befand sich — wohl infolge der niedrigen Wuchsstoffkonzentration — der gewichtsanalytische Grenzwert bereits bei 0,32%.

Im vorliegenden Versuch I konnte somit die Entwicklung der Blätter von *Erodium cicutarium* L. bei normalen Wachstumsbedingungen wie auch unter dem Einfluß von 2,4-D-Na 10^{-3}%, $0{,}5 \cdot 10^{-2}$% und 10^{-2}% hinsichtlich ihrer Entstehung, der Formbildung (Blattmorphologie) und auch gewichtsanalytisch verfolgt werden. Insbesondere wurde gezeigt, in welchen Bereichen der physiologischen Entwicklung eines Einzelblattes zur Erzielung eines bestimmten Wuchsstoffeffektes eine Behandlung mit einer bestimmten Konzentration dieses Wuchsstoffes bei *Erodium cicutarium* unter den gegebenen Wachstumsbedingungen erfolgreich war.

Zur Sicherung der Ergebnisse unter unterschiedlichen Wachstumsverhältnissen und Jahreszeiten und zur Vervollständigung der Angaben über noch fehlende Entwicklungsbereiche (noch fehlende Entstehungszeitpunkte von Blättern; Endgewichte der Blätter von 10 aufwärts; Aufnahme der behandelten Reihen in sämtlichen Ernten; Längenmessung der Blätter bes. im Bereiche unter Wägegröße) wurden die Versuche fortgesetzt.

Versuch II (26. 8.—13. 11. 56)

Zur Sicherung und Vertiefung der aus dem ersten Versuch gewonnenen vorläufigen Erkenntnisse wurde im Herbst ein ähnlicher Versuch mit der gleichen Versuchspflanze, *Erodium cicutarium*, angestellt. Das Grundschema der Versuchsanordnung wurde beibehalten. Als Wirkstoff wurde wieder 2,4-D-Na verwendet in den Konzentrationen 10^{-3}% und 10^{-2}%. Es wurden je Kistchen mit 15 Pflanzen auf einer Fläche von etwa 2000 cm² 15 cm³ der Lösung aufgesprüht. Der Spritztermin wurde vereinheitlicht.

Zur Erhöhung der Genauigkeit wurden die Beobachtungsweise und Auswertung etwas abgeändert bzw. verbessert. Nachdem die technischen Voraussetzungen

geschaffen worden waren, konnten diesmal sämtliche Versuchsglieder, „unbehandelt", 10^{-3}% und 10^{-2}%, zu den einzelnen Ernteterminen abgeerntet werden, was einen genauen Einblick in das Wachstum und die Jugendentwicklung auch der behandelten Pflanzen bzw. Blätter ermöglichte. Nachdem sich herausgestellt hatte, daß bereits die Konzentration 10^{-3}% morphologisch voll zur Wirkung gekommen war und die Pflanzen bei 10^{-2}% erhebliche Schädigungen erlitten, so daß die Aberntung dieser Konzentrationsreihe mit der 7. Ernte abgebrochen werden mußte, erfolgte die Auswertung im wesentlichen nur von den Versuchsgliedern Kontrolle und 10^{-3}% 2,4-D-Na.

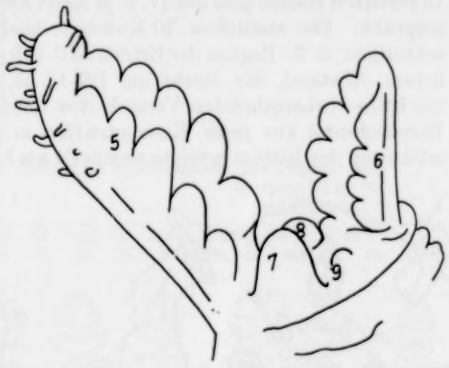


Abb. 4. *Erodium cicutarium*, Vegetationspunkt, halbschematisch. Blatt 8/9 eben in der Anlage (5. 9. 56, etwa 130 × vergr. Anbau: 26. 8.)

Erstmals wurden bei jeder Teilernte sämtliche Blätter einer Längenmessung unterworfen, was insbesondere bei den jeweils jüngsten Blättern im Bereich unterhalb der wägbaren Größe durch Extrapolation eine Erfassung der Entwicklungsstadien gestattete. Von den jüngsten Blättern und Blattanlagen wurde zum Spritztermin die Zahl der angelegten Fiederhöcker bestimmt und mehrfach das Diagramm des Vegetationskegels mikroskopisch (bis 30fache Vergrößerung mit dem Lupenstativ) festgelegt und gezeichnet (Abb. 4—8). Dadurch konnte für

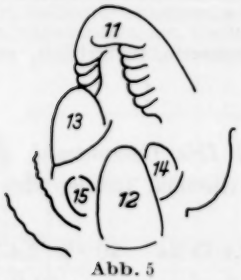


Abb. 5

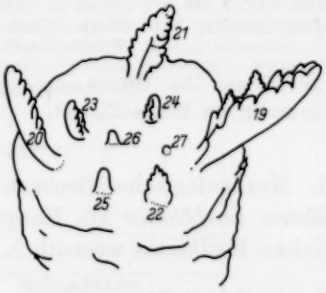


Abb. 6

Abb. 5. *Erodium cicutarium*, Vegetationspunkt, halbschematisch, 1. Aberntung. Blatt 15 in der Anlage (10. 9. 56, etwa 100 × vergr. Anbau: 26. 8.)

Abb. 6. *Erodium cicutarium*, Vegetationspunkt, halbschematisch, 3. Aberntung. Blatt 27 eben in der Anlage; unbehandelt (24. 9. 56, etwa 20 × vergr. Anbau: 26. 8.)

jedes einzelne morphologisch veränderte Blatt nach seiner Ordnungszahl das zugehörige Entwicklungsstadium zum Zeitpunkt der Spritzung definiert werden.

Vergleicht man die Ergebnisse des zweiten Versuches, die im weiteren noch eingehender behandelt werden, mit dem vorhergehenden Versuch, so fallen vor allem zwei Umstände auf:

1. Ein durch die Jahreszeit (Herbst statt Frühling) und die damit verbundenen zunehmenden Kurztagsverhältnisse völlig abgeänderter Wachstumscyclus der Pflanzen (Schnelligkeit des Anfangswachstums infolge hoher Wärme, Verdoppelung der an der Hauptachse zur Ausbildung gelangten Laubblätter, Verkümmerung der in der Anlage vorhanden gewesenen Blütenachse).

2. Ein trotz dieser ausgeprägten vegetativen Unterschiede in Form und Reihenfolge fast völlig gleichartiges Auftreten der bereits bekannten Blattanomalien.

Das am 26. 8. 56 angebaute *Erodium* wurde am 29. 8. in 28 Holzkistchen zu je 15 Pflanzen pikiert und am 17. 9. je neun Kistchen mit 2,4-D-Na 10^{-3}% und 10^{-2}% gesprüht. Die restlichen 10 Kistchen blieben unbehandelt. Beginn der Beobachtungen: 5. 9., Beginn der Ernten: 10. 9. Insgesamt wurden 10 Ernten in wöchentlichem Abstand, die letzte am 12. 11. 56, gewonnen. Bei jeder Ernte wurde wie beim vorhergehenden Versuch das Gewicht jedes Einzelblattes (aus 10fachem Durchschnitt) aus jeder Konzentration in gleicher Weise gewonnen, die Kennzeichnung der Blätter erfolgte ebenfalls wie bisher. Da, wie schon erwähnt, diesmal

Abb. 7

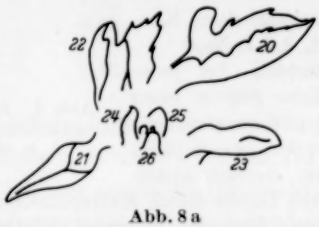


Abb. 8a

Abb. 8b

Abb. 7. *Erodium cicutarium*, Vegetationspunkt, halbschematisch, 3. Aberntung. Blatt 29/30 eben in Anlage; Spritzung 2,4-D, 10^{-3}, 17. 9. (24. 9. 56, etwa 20 × verg. Anbau 26. 8.)

Abb. 8 a u. b. *Erodium cicutarium*, a Vegetationspunkt, halbschematisch, 3. Aberntung. Ungefiederte Blätter angelegt (alle ab 20/21 nach der Spritzung entstanden. Spritzung: 2,4-D 10^{-2} 17. 9. (26. 9. 56, etwa 20 × vergr. Anbau: 26. 8.) Wachstum und Diagramm der Blattfolge gestört. b 17. Blatt, 9 Tage nach der Spritzung, 26. 9. 56 mit 2,4-D-Na 10^{-2}. Trichterfiedern angelegt. 20 × vergr.

die Ausbildung der Blütenanlage, welche verkümmerte, unterblieb, entfiel die Bestimmung der Blühwilligkeit.

Die Ergebnisse

1. Morphologische Beobachtungen: *a) Die Gesamtzahl der ausgebildeten Laubblätter* am Hauptsproß war diesmal infolge des jahreszeitlichen Einflusses wesentlich höher:

Sie betrug bei:	unbehandelt	10^{-3}% 2,4-D-Na	10^{-2}% 2,4-D-Na
	40	35,5	34,0

Datum	Ordnungszahl des in der Anlage eben entstehenden jüngsten Blattes
5. 9.	9
10. 9.	15/16
17. 9.	21
25. 9.	27/28

b) Die Entstehungstermine der einzelnen Blätter gehen aus nebenstehender Übersicht hervor (s. auch Tabelle 8).

Die dazwischen liegenden Blattnummern können durch Interpolation gewonnen werden.

c) Die aufgetretenen Anomalien und ihre Entstehungsverhältnisse:

Die Entwicklungsstadien der einzelnen Blattanlagen zum Zeitpunkt der Spritzung sowie die daraus entstandenen Blattformen sind aus Tabelle 8 sowie Abb. 4 bis Abb. 7 zu entnehmen[1].

[1] Siehe auch Herbarblätter im Archiv des Biologischen Laboratoriums.

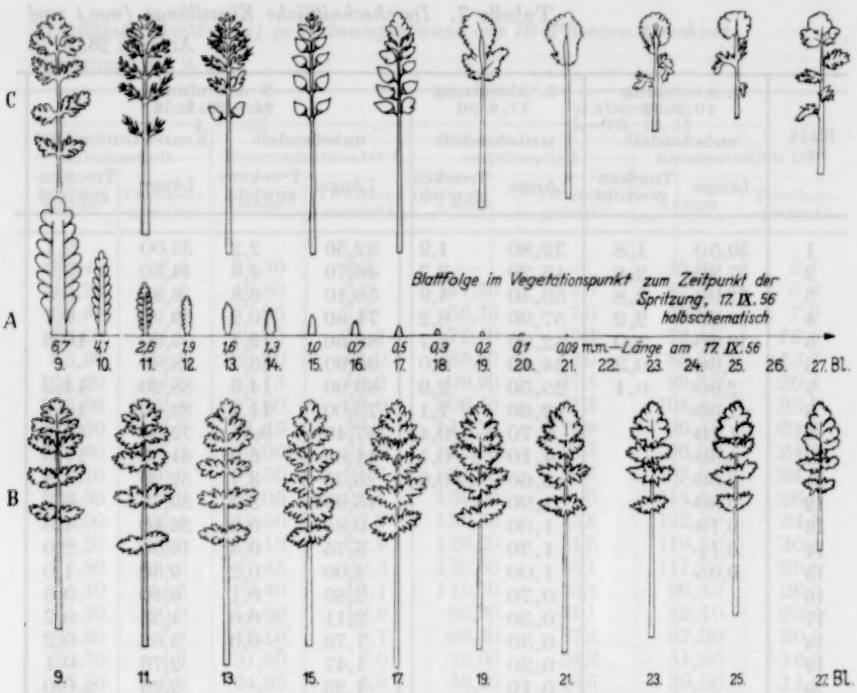


Abb. 9. *Erodium cicutarium*, Blattfolge der Blätter Nr. 9 bis 27 sowie Entwicklungszustand dieser Blattanlagen zum Zeitpunkt der Behandlung. A: Blattanlagen ab Blatt 9, 10 × vergr., halbschematisch, zum Zeitpunkt der Spritzung. B: Blätter derselben Folge, entwickelt, unbehandelt, nat. Größe. C: Blätter derselben Folge, entwickelt, Pflanzen am 17. 9. mit 2,4-D-Na gesprüht, nat. Größe

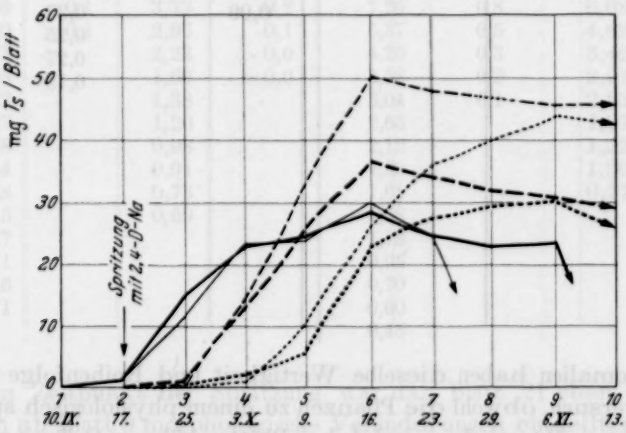


Abb. 10. *Erodium cicutarium*, 2. Versuch; Erträge einzelner Blätter aus der Blattfolge von Blatt 8 (normal) ——— = Kontrolle, unbehandelt, ——— 2,4-D-Na, 10^{-3} %; Blatt 15 (Trichterfiedern) — — — = unbehandelt, — — — = 2,4-D-Na, 10^{-3} %; Blatt 21 (ungefiedert) ····· = unbehandelt, ····· = 2,4-D-Na, 10^{-3} %

Tabelle 7. *Durchschnittliche Einzellänge (mm) und*

Anbau: 26. 8. 56

Blatt Nr.	1. Aberntung 10. 9. 56		2. Aberntung 17. 9. 56		3. Aberntung 24.—26. 9. 56			
	unbehandelt		unbehandelt		unbehandelt		Konzentration 10^{-5}	
	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht
1	30,50	1,8	32,80	1,9	32,50	2,2	33,00	2,1
2	37,30	2,8	45,20	3,7	46,70	4,6	44,30	3,7
3	32,90	2,8	53,40	4,9	58,10	6,8	58,30	6,5
4	24,20	2,2	57,90	6,2	71,80	10,2	69,90	9,7
5	12,60	1,0	52,90	5,7	88,50	12,1	77,30	10,6
6	4,60	0,3	34,40	4,0	96,90	13,7	88,80	—
7	2,60	0,1	25,50	2,9	89,90	14,5	88,20	14,2
8	1,50		12,60	1,1	73,00	11,6	82,60	15,1
9	1,10		6,70	0,4	57,40	9,5	72,90	13,5
10	0,80		4,10	0,1	41,80	6,9	61,30	11,3
11	0,50		2,60	> 0,0	26,35	3,7	52,20	8,8
12	0,30		1,90		15,90	2,0	39,75	6,2
13	0,19		1,60		9,85	0,9	26,40	4,0
14	0,11		1,30		5,75	0,4	16,00	2,0
15	0,05		1,00		4,00	0,2	9,30	1,0
16			0,70		2,89	0,1	6,40	0,6
17			0,50		2,11	> 0,0	4,53	0,2
18			0,30		1,79	> 0,0	3,62	0,2
19			0,20		1,47		2,76	0,1
20			0,10		1,23		2,26	> 0,0
21			0,09		1,01		1,78	
22					0,78		1,50	
23					0,57		1,18	
24					0,45		0,90	
25					0,27		0,72	
26					0,18		0,54	
27					0,09		0,37	
28							0,25	
29							0,27	
30							0,15	
31								
32								
33								
34								
35								
36								
37								
38								
39								
40								

Die Anomalien haben dieselbe Wertigkeit und Reihenfolge wie im Frühjahrsversuch, obwohl die Pflanzen zu einem physiologisch späteren Zeitpunkt besprüht wurden, und daher Blätter höherer Ordnungszahlen die bereits bekannten Anomalien ausbildeten.

Einzelblattgewicht (mg) je Ordnungspflanze aus 10 Pflanzen berechnet
Spritzung: 17. 9. 56

4. Aberntung 1.—4. 10. 56				5. Aberntung 8.—10. 10. 56			
unbehandelt		Konzentration 10^{-3}		unbehandelt		Konzentration 10^{-3}	
Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht
32,40	*2,4*	31,30	2,1	—	—	35,20	*2,7*
47,90	*5,4*	46,80	5,0	47,30	5,0	47,20	*5,0*
58,60	*7,6*	57,85	7,6	56,70	7,0	59,00	*7,9*
73,00	*11,9*	69,95	11,1	72,40	10,3	72,40	*12,6*
85,90	*13,8*	80,90	14,0	85,50	13,0	85,70	*13,7*
101,20	17,8	93,15	18,6	99,90	17,5	99,70	*20,8*
106,80	22,4	97,80	22,0	106,40	21,3	104,40	25,7
111,50	23,3	94,45	23,1	113,30	23,9	96,40	24,5
115,60	25,2	90,90	21,2	122,80	28,3	96,90	24,2
115,40	26,0	94,50	21,7	131,80	30,6	102,90	24,1
106,90	25,9	91,05	22,4	130,60	31,0	114,60	26,3
102,00	26,4	110,40	23,9	130,30	33,8	122,20	24,3
88,20	22,8	99,10	22,9	126,20	34,8	119,30	30,4
71,90	20,0	87,45	20,3	122,60	35,1	111,70	28,8
56,40	14,5	70,40	13,1	110,70	33,4	96,40	26,3
44,20	10,9	54,90	12,9	99,30	31,1	82,10	23,2
33,90	7,4	42,10	9,7	86,40	27,4	67,30	20,6
22,70	4,3	31,80	7,0	75,00	24,2	51,80	16,3
17,50	2,8	24,95	4,8	59,30	18,5	39,50	11,8
12,85	1,6	18,15	3,0	45,90	14,2	29,55	8,3
9,05	0,9	14,20	2,1	36,50	10,3	23,75	6,0
6,70	0,4	10,90	1,4	24,45	6,0	19,65	4,3
4,90	0,3	8,60	0,9	18,35	4,1	15,45	3,2
3,82	0,3	6,65	0,6	13,05	2,3	11,50	1,8
3,23	0,1	4,92	0,4	9,15	1,3	8,38	1,2
2,56	0,1	3,73	0,2	7,26	0,8	6,68	0,8
2,20	0,1	2,93	0,1	5,37	0,5	4,69	0,5
1,83		2,23	$>0,0$	4,25	0,3	3,42	0,3
1,48		1,69	$>0,0$	3,58	0,2	2,91	0,2
1,22		1,38		3,04	0,1	2,23	0,1
0,97		1,20		2,65		1,67	
0,78		0,98		2,12		1,22	
0,64		0,91		1,88		1,00	
0,48		0,73		1,61		0,77	
0,35		0,69		1,38			
0,27				1,18			
0,21				0,95			
0,16				0,70			
0,11				0,60			
				0,45			

Zum Zeitpunkt der Spritzung war das Blatt 21 eben entstanden. Da sich ab Blatt 9 morphologische Veränderungen einstellten, die Blattentwicklung sich aber ab Blatt 27 wieder einigermaßen normalisiert hat, ergibt sich, daß diesmal 12 Blätter, welche am Tage der Spritzung

Tabelle 7 (Fortsetzung). *Einzelblattlängen (mm)*

Blatt Nr.	6. Aberntung 15—18. 10. 56				7. Aberntung 22.—24. 10. 56			
	unbehandelt		Konzentration 10^{-3}		unbehandelt		Konzentration 10^{-3}	
	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht	Länge	Trockengewicht
1	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	71,11	11,9	—	—	—	—
5	92,50	13,2	83,50	*15,2*	—	—	—	—
6	106,50	*18,7*	96,10	20,5	—	—	—	—
7	118,40	*25,5*	102,30	*25,8*	—	—	113,16	24,9
8	122,50	*31,1*	99,40	*28,8*	122,37	25,0	108,10	24,8
9	128,90	*35,0*	95,22	*26,7*	127,60	29,7	103,00	26,4
10	136,80	*42,3*	94,50	*26,1*	132,00	34,1	106,20	24,7
11	137,80	*45,2*	107,00	27,0	134,00	37,6	111,70	*27,2*
12	138,00	*47,6*	117,30	29,8	132,80	44,4	127,40	32,3
13	133,60	*51,1*	123,40	*34,4*	129,55	45,7	128,60	33,9
14	125,00	*51,0*	125,20	*36,8*	130,40	46,0	123,40	35,2
15	117,10	*50,4*	123,10	*36,6*	126,00	48,2	123,80	34,1
16	110,80	*49,0*	115,00	*37,1*	127,45	48,4	120,90	34,8
17	98,80	45,5	110,30	37,5	120,70	*46,7*	120,50	*38,6*
18	90,30	42,6	97,80	36,2	118,80	46,2	116,90	38,3
19	80,10	35,9	85,00	32,2	112,90	42,3	108,70	34,3
20	69,95	31,4	70,50	27,1	101,60	38,2	99,40	29,7
21	58,50	26,4	58,50	22,8	95,25	36,2	95,30	27,7
22	45,20	19,1	48,00	17,8	83,70	30,4	81,60	26,5
23	35,10	13,4	39,50	14,6	70,50	25,9	67,80	22,5
24	26,40	8,8	30,80	11,7	64,20	22,7	63,00	22,2
25	20,30	5,9	24,70	9,0	53,35	18,4	54,30	20,3
26	15,50	3,8	20,85	7,4	44,00	14,7	49,20	17,8
27	11,35	2,2	15,60	5,0	35,85	11,0	38,80	12,5
28	8,60	1,5	13,29	3,5	28,30	8,4	33,30	11,1
29	6,53	0,8	9,45	2,0	23,00	6,5	29,00	9,1
30	5,12	0,5	7,18	1,2	18,15	4,9	21,75	6,1
31	4,43	0,4	5,47	0,8	14,25	3,3	15,80	4,2
32	3,55	0,2	4,18	0,4	10,70	2,1	12,35	3,2
33	2,84	0,1	3,79		8,80	1,6	8,94	1,7
34	2,22	0,1	2,63		6,51	1,0	7,68	1,3
35	1,82		2,46		5,24	0,5		
36	1,55		1,90		4,50	0,5		
37	1,27				3,47			
38					2,85			
39								
40								

bereits in verschiedenen Stadien vorhanden waren, sowie 6 weitere, welche erst nachher entstanden, morphologisch beeinflußt wurden. Blatt 9, das als erstes eine geringe morphologische Abweichung vom Normalblatt zeigt, entstand am 5. 9., also 12 Tage vor der Spritzung und wog zum Zeitpunkt dieser Spritzung 1,5% seines endgültigen

und Einzelblattgewicht (mg)

8. Aberntung 29. —30. 10. 56				9. Aberntung 5.—6. 11. 56				10. Aberntung 12.—13. 11. 56			
unbehandelt		Konz. 10^{-3}		unbehandelt		Konz. 10^{-3}		unbehandelt		Konz. 10^{-3}	
Länge	Trok-ken-gew.	Länge	Trok-ken-gew.	Länge	Trok-ken-gew.	Länge	Trok-ken-gew.	Länge	Trok-ken-gew.	Länge	Trok-ken-gew.
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	95,33	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	98,70	23,2	—	—	101,87	23,9	—	—	—	—
—	—	93,77	22,7	—	—	100,22	23,4	—	—	96,33	—
127,50	28,3	95,88	22,4	128,28	28,0	96,30	23,3	—	—	97,25	21,5
124,90	29,3	104,50	22,3	134,10	33,4	106,50	23,8	138,77	33,3	105,71	23,3
123,60	32,9	118,30	26,4	135,70	37,7	113,10	26,5	135,71	34,3	118,66	25,9
121,50	36,7	126,60	31,1	134,40	40,9	120,22	29,5	140,30	39,3	117,71	28,5
116,00	37,8	127,60	32,5	132,80	43,5	120,11	29,9	142,30	43,4	122,37	29,8
117,50	38,0	124,90	32,3	136,40	45,8	118,70	31,1	146,50	46,1	119,55	29,1
114,20	39,0	128,00	33,3	132,60	43,2	118,10	32,4	141,60	48,5	120,10	29,7
109,10	37,5	125,80	35,3	131,60	47,4	119,60	34,3	141,30	48,6	121,55	32,6
108,10	35,7	125,90	*38,6*	128,80	47,9	117,60	36,5	138,80	*48,7*	123,10	35,3
102,80	35,1	121,70	*36,3*	124,10	*48,3*	110,40	34,0	134,10	47,8	118,20	34,3
100,80	34,2	117,30	*34,9*	122,10	*46,1*	108,70	33,9	135,30	45,5	113,60	30,1
97,00	29,2	113,90	29,6	118,50	*44,4*	98,20	*30,4*	130,30	42,9	106,20	26,3
91,30	26,8	107,20	26,2	117,70	*42,2*	91,30	*27,0*	127,00	41,6	103,20	25,2
87,90	25,2	98,40	*28,1*	110,90	38,9	85,90	26,7	127,70	*39,1*	89,20	25,2
82,60	22,3	96,60	*30,2*	107,90	36,4	81,10	26,0	121,70	*38,5*	82,10	25,6
74,40	19,7	87,10	31,0	102,50	34,2	65,10	23,3	120,00	*36,8*	87,10	*28,2*
65,50	16,2	87,10	29,9	95,30	32,2	76,00	28,9	113,90	*34,4*	98,77	*34,5*
55,00	14,0	71,50	24,0	87,90	30,5	78,40	28,8	108,90	*33,0*	97,90	*33,3*
46,80	12,1	63,40	21,6	79,50	26,9	80,80	*30,2*	101,70	*29,5*	84,40	27,4
41,23	9,8	55,80	20,1	68,30	24,2	76,10	*28,8*	91,70	28,3	79,20	26,5
31,40	8,6	48,80	18,3	59,90	21,8	58,80	22,1	85,10	*25,5*	81,00	*27,4*
28,88	6,1	39,00	15,1	50,60	18,4	50,40	19,3	75,90	*23,0*	94,33	*32,4*
21,44	4,7	31,80	10,6	41,40	15,6	47,10	18,6	67,80	*21,4*	79,00	*26,9*
17,00	3,4	21,20	7,0	34,10	12,7	45,33	17,6	61,50	*17,7*	67,55	*22,2*
13,33	2,1	15,30	4,1	27,40	10,1	40,00	15,5	49,90	*14,7*	58,14	*20,1*
10,12	1,3	9,62	1,9	21,20	7,3	31,87	11,9	41,50	*11,8*	41,14	*14,6*
7,35	0,7	6,47	0,9	16,60	4,8	22,62	*8,4*	33,80	*9,1*		
5,76	0,4			12,90	3,5	16,28	*4,8*	26,10	*7,9*		
4,74				9,59	2,1			23,11	*5,1*		
4,11				7,48	1,2			17,77	*3,7*		
				6,28	0,8			13,66	*3,1*		

Normalgewichtes. Die Länge betrug 5,2% der Endlänge des ausgewachsenen Blattes.

Den Endpunkt des morphologischen Einflusses konnte man in diesem Versuch etwa mit dem Blatt 27 fixieren. Blatt 27 entstand als Blattanlage rund 6 Tage nach durchgeführter Spritzung an den mit 10^{-3}%

gesprühten Pflanzen, während die unbehandelte Reihe dasselbe Blatt etwa 1 Tag später (am 24./25. 7.) ausbildete.

Die *Auszählung der Fiederhöcker* (Fiederanlagen) wurde an den jeweils jüngsten Blättern, welche noch keinen Blattstiel aufwiesen, vorgenommen. Die Höchstzahl stieg bis zur 5. Aberntung (9. 10) auf 10. Da die Höchstzahl der fertig ausgebildeten Blattfiedern bei *Erodium cicutarium* in allen unseren Versuchen nie mehr als 6 Paare betrug, wozu noch eine unpaare, mehrfach geteilte Endfieder kommt, ist an-

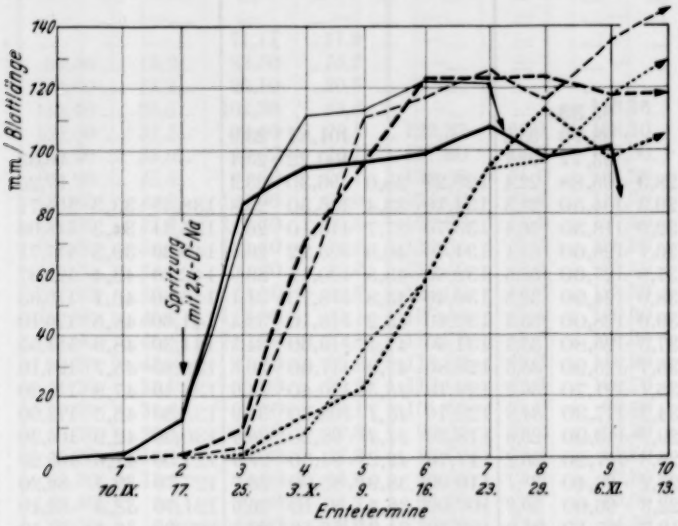


Abb. 11. *Erodium cicutarium*, Blattlängen von Blatt 8 (normal) ——— = Kontrolle, ——— = 10^{-3} % 2,4-D-Na; von Blatt 15 (Trichterfiedern) — — — = Kontrolle, — — — = 10^{-3} % 2,4-D-Na; von Blatt 21 (ungefiedert) ····· = Kontrolle, ····· = 10^{-3} % 2,4-D-Na

zunehmen, daß die Höcker an den Blattanlagen teilweise zu selbständigen Fiedern, teilweise zu Lappen an solchen Fiedern weiterentwickelt werden.

Wesentlich war das Ergebnis der Fiederauszählung am Tage der Spritzung (s. Tabelle 8). *Fiedern an den morphologisch veränderten Blattspreiten wurden nur so weit ausgebildet, als sie am Tage der Spritzung bereits in der Anlage vorhanden waren*, wobei ihre Form gegenüber „unbehandelt" um so stärker abwich, je jünger das Blatt war. (Blatt 9 bis 18) Soweit die Blattanlagen eben entstanden und noch nicht durch mikroskopisch erkennbare Fiederhöcker zu diesem Zeitpunkt differenziert waren, *wurde die normale auftretende Fiederung völlig unterbunden*. Es entstanden ungefiederte bzw. ungeteilte, lediglich mäßig gelappte Spreiten (Blatt 20, 21, 22). Erst im weiteren Verlauf des Wachstums stellte sich, wahrscheinlich durch allmähliches Absinken des Wuchsstoffspiegels bedingt, an den später entstehenden Folgeblättern nach einigen Übergangstypen wieder die Normalfiederung ein (hier ab Blatt 27

bei 10^{-3}%), wobei allerdings die Zahl der Fiederpaare noch etwas gegenüber der Kontrolle herabgesetzt erscheint.

Auch diesmal gelangte jede neue morphologische Form am untersten (jüngsten) Fiederchen zuerst zur Entwicklung. Ebenso wiederholte sich die Beharrungstendenz der Endfieder, d. h., diese machte alle Umwandlungen nicht oder nur in abgeschwächtem Maße mit.

d) Die Längenmessungen sind aus Tabelle 7 sowie aus dem Diagramm der Abb. 11 zu entnehmen.

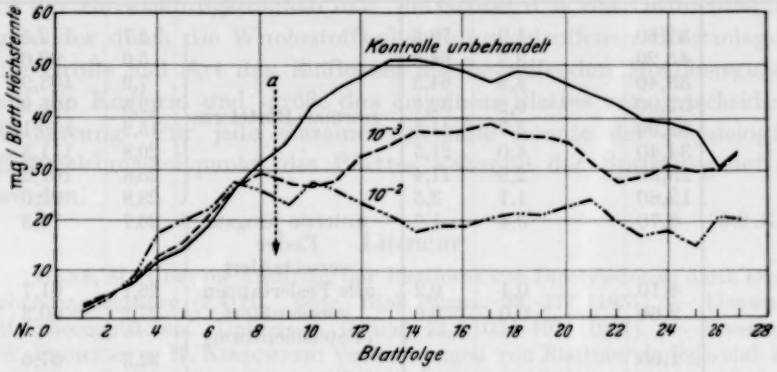


Abb. 12. *Erodium cicutarium*, 2. Versuch; Anbau 26. 8. 56. Die jeweiligen Höchsternten bis Blatt 27 bei unbehandelt, 2,4-D-Na 10^{-3}% und 10^{-2}%. *a* = Beginn der morphologischen Veränderungen

2. Gewichtsanalytische Ergebnisse (s. Tabelle 7 und Abb. 10 und 12). Die Einzeldurchschnitte je Blatt-Nr. und Erntetermin sind aus der angegebenen Tabelle und den Abbildungen ersichtlich. In diesem Versuch war es auch möglich, genauere Angaben über die hemmende bzw. wachstumsfördernde Wirkung der Spritzung zu machen (Abb. 12). Im Bereich der morphologischen Anomalien (Blatt 9—26) ergab sich durchwegs eine Abnahme der Größe und des Gewichtes der einzelnen Blätter, welche bei 10^{-2}% stärker, bei 10^{-3}% schwächer war. Dagegen wurden die morphologisch nicht mehr beeinflußten älteren Blätter 1—7, die zum Zeitpunkt der Spritzung rund 80—11% ihres Endgewichtes erreicht hatten, durch die Wuchsstoffeinwirkung im Gewicht gefördert, am stärksten durch 10^{-2}% (bis auf 118% der Kontrolle), die bei den Blättern jünger als Nr. 9 wiederum am stärksten hemmend wirkte.

Die Gewichte zum Zeitpunkt der Spritzung sind für beide Konzentrationen aus Tabelle 4 zu entnehmen.

Schließlich ergab sich aus dem Bereich der mit Blatt 28 wieder einsetzenden Normalisierung der Blattfolge (s. Abb. 12), daß die gewichtsanalytischen Werte der unbehandelten Kontrolle bei mit 10^{-3}% 2,4-D-Na behandelten Pflanzen erreicht bzw. leicht (innerhalb der Fehlergrenze)

Tabelle 8. *Blattentwicklung und Blattform bei Erodium cicutarium nach Behandlung mit 2,4-D-Na*

Blatt Nr.	Entstehungsdatum	Am 17. 9., dem Zeitpunkt der Spritzung betrug: Länge in mm	Zahl der Fiederhöcker	Trockengewicht in mg	in % des Endgew. d. Kontr. (Maximum)	Endform des Blattes, Pflanze mit 2,4-D-Na Konzentrat. 10^{-3}% besprüht: Fertige Blattform	Erntetrockengewicht in mg	Erntegewicht in % der Kontrollen, Vergleich Ertragsmaxima
1		32,80		1,9	79,2		2,7	112,5
2		45,20		3,7	68,5		5,0	92,6
3		53,40		4,9	64,5		7,9	103,9
4		57,90		6,2	52,1	normale Blattform	12,6	105,9
5		52,90		5,7	41,3		15,2	110,1
6		34,40		4,0	21,5		20,8	111,3
7		25,50		2,9	11,4		25,8	101,2
8		12,60		1,1	3,5		28,8	92,6
9	5. 9. 56	6,70		0,4	1,5	unterste jüngste Fieder verschmälert	26,7	76,3
10		4,10		0,1	0,2	alle Fiederlappen	26,1	61,7
11		2,60		> 0,0	> 0,0	verschmälert (Petersilienform)	27,2	60,2
12		1,90					32,3	67,6
13		1,60				Übergang zu	34,4	67,3
14		1,30	7			Trichterfiedern	36,8	72,1
15	10. 9. 56	1,00	7			Trichterfiedern,	36,6	72,6
16		0,70	6	Gewicht		gegen die Blatt-	37,1	75,7
17		0,50	4	nicht mehr meßbar		spitze zu in einfache ganzrandige Fiedern übergehend	38,6	82,6
18		0,30	2			Übergangsformen	38,6	79,3
19		0,20	0			zur ungefiederten	36,3	75,1
20		0,10	0			Spreite	34,9	75,7
21		0,09	0			ungefiederte	30,4	68,3
22	17. 9. 56					gelappte Spreite	27,0	64,0
23						Übergang zur	28,1	96,6
25						gefiederten	30,2	78,4
25						Normalform	28,2	76,6
26						ab 26: gefiederte	34,5	100,3
27	24. bis					Normalform, jedoch	33,3	100,9
28	26. 9. 56					weniger Fiederpaare. Blatt im	30,2	102,4
29							28,8	101,8
30						Ganzen gegenüber „unbehandelt“ etwas verkleinert	28,4	107,4

überschritten wurden, während jene der mit 10^{-2}% behandelten, bereits deutliche Schäden zeigenden Pflanzen wesentlich geringere, teilweise unter 50% liegende Werte aufwiesen[1].

[1] Im Gegensatz zur Gewichtsverminderung wurde die Lebensdauer durch die Wirkstoffbehandlung allgemein erhöht (s. Tabelle 7 und Abb. 11).

Zusammenfassung

Zwei umfangreiche Versuche mit *Erodium cicutarium*, bei welchen durch Besprühung mit wäßrigen Lösungen von 2,4-D-Na während der Blattbildung eine vorübergehende Veränderung (Erhöhung) des Wuchsstoffspiegels in der Pflanze zu erzeugen versucht wurde, zeigten, daß zwischen der Ausbildung der Blattform und der Höhe des jeweiligen Wuchsstoffspiegels in der Pflanze ein gesetzmäßiger, wenn auch durch viele Einflüsse der Umwelt überdeckter Zusammenhang besteht. Dabei ist der Entwicklungszustand bzw. die Größe, d. h. der Differenzierungsgrad der durch die Wuchsstoffbehandlung getroffenen Blattanlage für die Größe und Art des Einflusses des betreffenden Morphoregulators auf die Endform und -größe des einzelnen Blattes von entscheidender Bedeutung. Für jede einzelne Anomalie konnte der physiologische Entwicklungszeitpunkt des Blattes während der Spritzung definiert werden.

Literatur

Hanf, M.: Über die Änderung der Blattform von Dicotyledonen durch Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D). Beitr. Biol. Pflanz. **33**, 177 (1957). — Linser, H.: Morphoregulatoren. Universum (Wien) **12**, 103—107 (1957). — Linser, H., W. Frohner u. R. Kirschner: Veränderungen von Blattmorphologie und Blattfolge bei *Erodium cicutarium* unter dem Einfluß von Phenoxyessigsäurederivaten. Ber. dtsch. bot. Ges. **68**, 46—51 (1955).

Dozent Dr. H. Linser und Dipl.-Ing. R. Kirschner,
Biologische Forschungsabteilung der Österreichischen Stickstoffwerke AG
Linz a. d. Donau (Österreich)

Planta, Bd. 50, S. 238—249 (1957)

Aus der Biologischen Forschungsabteilung der „Österreichische Stickstoffwerke Aktiengesellschaft" (Leiter: Priv.-Doz. Dr. H. Linser), Linz a. d. Donau

ZUR BEEINFLUSSUNG DER BLATTBILDUNG DURCH MORPHOREGULATOREN

II. FORMBILDENDE WIRKUNGEN VERSCHIEDENER STOFFE BEI TRIFOLIUM PRATENSE

Von

Hans Linser, Oswald Kiermayer und Robert Jarosch

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. Juli 1957)

Es ist bekannt, daß die Blätter von *Trifolium pratense* statt ihrer normalerweise 3 Blättchen nicht selten 4 Blättchen ausgebildet haben, und daß solche Pflanzen dann im Volksmund als „Glücksklee" bezeichnet werden. Über Mißbildungen an Klee berichtete schon de Vries (1901), der imFrühjahr an einer *Trifolium repens*-Pflanze seines Gartens stets „trichterartige" Blättchen beobachtete. Kajanus (1912, 1913) konnte an einer bestimmten Rotklee-Sorte überaus zahlreiche morphologische Veränderungen, die hauptsächlich in Polyphyllie und Fasciationen bestanden, feststellen und nahm das Problem der Mehrblättrigkeit beim Klee zum Anlaß einer ausführlichen Arbeit (1913). Dabei zeigte sich, daß beim Rotklee ohne vorherige experimentelle Beeinflussung irgendwelcher Art Blätter auftreten können, die an Stelle von 3 Blättchen häufig 4, 5, 6, ja bis zu 9 Blättchen ausgebildet haben, die untereinander teilweise verwachsen sein können und stark verbänderte Blattstiele besitzen. Bei seinen Beobachtungen konnte er auch schon „trompetenartige" Blättchen (Kajanus 1913, S. 122 Fig. 8) feststellen. Auch Penzig (1921) berichtet in seiner Pflanzenteratologie über mißgebildete Kleeblätter. Jüngst konnten Thaler und Weber (1955) auf einer Wiese des Grazer Stadtparkes Ende August eine Pflanze von *Trifolium pratense* finden, die neben dreizähligen auch ein vierzähliges und 8 fünfzählige Blätter zeigte. Bei den fünfzähligen Blättern waren die zwei überzähligen Blättchen zu „Trichterblättchen" ausgebildet (Thaler und Weber 1955, S. 74, Abb. 1). In diesem Zusammenhang sind Versuche von Tumanov und Lizandr (1946) interessant, die bei Sprühversuchen mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure an Luzerne feststellten, daß bei Langtagspflanzen eine starke morphologische Veränderung der Blätter, bei Kurztagspflanzen dagegen Mehrblättrigkeit (bis zu 6 Blättchen) der Blätter, die außerdem in Größe und Form verschieden waren, auftraten.

Starke morphologische Veränderungen an Kleeblättern konnte ferner auch BRUNS (1954) als Folge von Mutationen, die durch Röntgenbestrahlung induziert wurden, beobachten.

Bei eigenen, im hiesigen Laboratorium durchgeführten Versuchen mit verschiedenen Herbiziden, zumal halogensubstituierten Phenoxyessigsäure- und Benzoesäurederivaten, konnten nun schon seit mehreren Jahren an *Trifolium pratense* starke Terata beobachtet werden, die den auch natürlich vorkommenden Mißbildungen sehr ähnlich sind. Es schien daher von besonderem Interesse, zu untersuchen, inwieweit chemische Substanzen und welche von ihnen in der Lage sind, die Zähligkeit und Morphologie der Rotklee-Blätter zu verändern. Bekanntlich sind in jüngerer Zeit zahlreiche verschiedene „hormonartige" Substanzen, die zum größten Teil zellstreckungsfördernde oder hemmende Wirkung zeigen (vgl. LINSER 1954, LINSER u. KIERMAYER 1956), gefunden worden, die mannigfache morphologische Veränderungen an Pflanzen hervorrufen können, darunter vor allem die *Ausbildung von Trichterblättern* als Folge einer Ringfasciation (z. B. HANF 1951; LINSER, FROHNER u. KIRSCHNER 1953), eine *Reduktion der Blattlamina* (z. B. LINSER 1951, WENCK 1952), Polyphyllie und *eine geänderte Blattfolge* (LINSER, FROHNER u. KIRSCHNER 1955), sowie mannigfache Veränderungen an Blüten und Früchten (KIERMAYER 1957a, b).

Im folgenden sollen Versuche mit verschiedenen chemischen Substanzen an *Trifolium pratense* beschrieben werden, bei denen auch teilweise eine quantitative Auswertung der Zähligkeit durchgeführt wurde.

Material und Methodik

Als Versuchsmaterial diente *Trifolium pratense* (Sorte „Oberösterreichischer Rotklee"). Die Samen wurden Anfang Mai 1956 in Mitscherlich-Gefäßen in Erde angebaut und 24 Tage nach dem Anbau (es waren zu diesem Zeitpunkt bereits kleine 3-blättrige Pflänzchen entwickelt) mit wäßrigen Wirkstofflösungen[1] in einer Konzentration von 0,25% besprüht. Substanzen, die nicht sofort im Wasser löslich waren, wurden unter Erwärmung bzw. durch Zusatz von 1—2 Tropfen konzentrierter HCl oder konzentriertem Ammoniak gelöst. Pro Substanz wurden jeweils 2 Mitscherlichgefäße besprüht; 2 Gefäße blieben als Kontrollen unbesprüht. Die Aberntung des Klees erfolgte Mitte Juli, ca. 55 Tage nach der Spritzung in der Weise, daß sämtliche Blätter jedes Gefäßes nach ihrer Blättrigkeit sortiert und ausgezählt wurden. Die in den nachfolgenden Tabellen angegebenen Werte wurden aus den jeweils 2 zusammengehörigen Gefäßen gewonnen.

Die Werte über den Trockengewichtsertrag wurden aus Versuchen, die von April bis Juli 1955 bei gleicher Versuchsanordnung wie im Jahre 1956 gewonnen. Die Angaben über die Wirksamkeit verschiedener Substanzen bei verschiedener Konzentration wurden aus Versuchen, die ebenfalls (bei gleicher Versuchsanlage) im Herbst 1956 durchgeführt wurden, erhalten.

[1] Die zur Verwendung gelangten Wirkstoffe wurden im I. Organischen Laboratorium der „Österreichische-Stickstoffwerke-Aktiengesellschaft" synthetisiert.

Die Versuchsergebnisse

Im folgenden sollen die Versuchsergebnisse, insbesondere die morphologischen Veränderungen an Kleeblättern durch die Besprühung mit synthetischen Wirkstoffen näher beschrieben werden.

Als *besonders aktiv* im Hinblick auf formative Wirksamkeit zeigten sich folgende Stoffe:

2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Na (2,4-D-Na), 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Polyglycolester 400 (2,4-D-P), 2,5-Dichlorphenoxyessigsäure-Na, 2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure, 2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Butylester, 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na, 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Butylester, 2,3,5-Trijodphenoxyessigsäure, 2,3,5-Trijodbenzoesäure, N-(1-Naphthyl)-phthalamidsäure-Na, 2,4,5-Trichlorbenzoesäure, Maleinsäurehydrazid.

Weniger wirksam waren:

Dimethylthiuramessigsäure, 3,5,-Dinitro-2-methylbenzoesäure, 2-Hydroxy-3,5-Dichlorbenzoesäure, 4,6-Dinitro-o-kresol, 2,4-Dichlorphenol, Dinitro-sek.-butylphenol, 2,4-Dichlorphenol.

Unwirksam waren folgende Substanzen:

Indol-3-buttersäure-Na, β-Naphthylessigsäure-Na, α-Naphthylessigsäure-Na, 4,5-Dinitro-2-methylbenzoesäure, Monojodessigsäure, Pentachlorphenol, Cyanessigsäureallylester, Phenyl-methyl-glycinäthylester, Methylindazol, β-Naphthoxyessigsäure, Pentachlorthiophenol, β-Naphthylaminoessigsäure, 3,5-Dichloranthranilsäure, Benthiazol-2-thioglykolsäure, 3-Chlorpyridazon, 2,4,5-Trichlorphenylglycin, Indol-3-acetonitril, Indol-3-essigsäure-Na.

Die formative Wirkung der genannten Stoffe bestand in einer *morphologischen Änderung der Blättchen* und der *Blattstiele* sowie in der *Induktion von mehrzähligen Blättern* (Abb. 1). Als häufige Blattanomalie trat bei normaler Blättchenanzahl eine starke Verschmälerung und Einrollung der Blättchenspreite ein (Abb. 2). Außerdem war der Gesamtwuchs solcher in dieser Weise veränderten Pflanzen kümmerlich, ihre Färbung auffallend dunkelgrün. Neben diesem „schmalblättrigen" Klee fanden sich aber stets Pflanzen, die Blätter von normaler Größe ausgebildet hatten, deren Blättchen jedoch untereinander teilweise oder ganz verwachsen waren. Als sehr auffallende Veränderung konnten häufig „trichterförmige" Blättchen beobachtet werden, deren Form mit der von THALER und WEBER (1955) gefundenen vollkommen übereinstimmte. Neben den trichterförmigen *Blättchen* fanden sich aber auch ganze Blätter, die völlig zu Trichtern umgebildet waren. Besonders häufig traten solche Formen bei Behandlung mit 2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure (Na-Salz) oder deren Butylester auf, wobei dazu noch zu beobachten war, daß bei dieser Substanz im Gegensatz zu anderen, die meisten Blättchen eine starke

Abb. 1. Gefäßversuch mit *Trifolium pratense*. Oben: Besprühung mit 0,25 % 2,3,6-trichlorphenoxyessigsaurem Natrium; starke Veränderung der Zähligkeit und des Habitus der Blätter. Unten: Besprühung mit 0,25 % N-(1-naphthyl)-phthalamidsaurem Natrium; starke Veränderung der Zähligkeit der Blätter

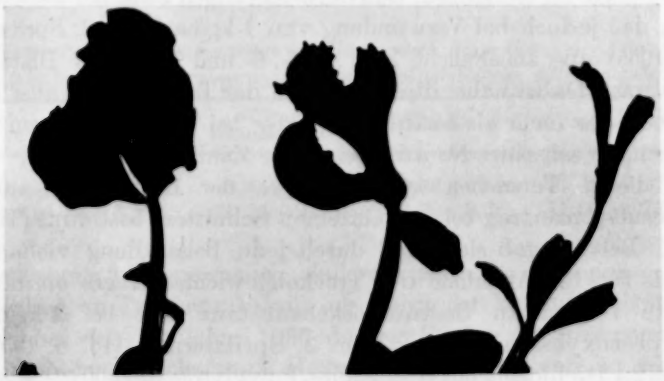


Abb. 2. Formveränderungen dreizähliger Blätter von *Trifolium pratense*, entstanden nach Besprühung der Pflanzen mit 2,3,6-trichlorphenoxyessigsaurem Natrium

Wellung und „Fransung" zeigten (Abb. 2). Ähnliche auffallende Formen konnten auch mit Maleinsäurehydrazid erzielt werden.

Als weitere Wirkung der genannten aktiven Stoffe trat eine *Erhöhung oder Verringerung der Zähligkeit der Kleeblätter* ein. Dabei war die Blattform häufig völlig normal, so daß bei Vierzähligkeit der sogenannte „Glücksklee" entstand. Vielfach aber war auch bei Blättern mit erhöhter oder verminderter Blättchenanzahl die Blattform sehr stark verändert. Neben den normalen 3-blättrigen Blättern konnten 1-, 2-, ferner 4-, 5-, 6-, 7-, 8- und 9-blättrige gefunden werden. In Tabelle 1 ist

Tabelle 1. *Übersicht über die Zähligkeit der Blätter der beim II. Schnitt geernteten Pflanzen des Versuches von Tabelle 2*

Behandlung		Unbehandelt	1,0 kg/ha 2,4-D-Na 16. 5. 55	1,0 kg/ha 2,4-D-Na 31. 5. 55	1,0 kg/ha 2,4-D-Na 14. 6. 55	2,0 kg/ha 2,4-D-P 16. 5. 55	2,0 kg/ha 2,4-D-P 31. 5. 55	2,0 kg/ha 2,4-D-P 14. 6. 55
Zahl der Blätter .		3564	3088	3762	3732	1458	2144	1006
Trockengewicht pro Blatt in mg . .		51,2	35,9	29,4	30,0	50,0	33,9	46,8
Zahl der Blätter mit der Blattzähligkeit: in ‰ aller Blätter	3	995,7	906,8	833,2	937,5	989,7	994,3	999,0
	4	4,0	33,0	73,0	36,2	7,6	4,7	1,0
	5	0,3	30,8	63,2	23,0	2,7	0,5	—
	6	—	14,2	13,8	1,9	—	0,5	—
	7	—	11,0	10,9	0,3	—	—	—
	8	—	3,2	4,3	0,8	—	—	—
	9	—	1,0	1,3	0,3	—	—	—
	10	—	—	0,3	—	—	—	—
Becherblätter . .		keine	keine	mehrere	mehrere	keine	keine	keine

eine Übersicht über die Zähligkeit der im Jahre 1955 durchgeführten Versuche bei verschieden hohen Gaben von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Na und 2,4-Dichlorphenoxyessigsäurepolyglykolester wiedergegeben. Daraus ist ersichtlich, daß die 3-blättrigen zwar bei weitem überwiegen, daß jedoch bei Verwendung von 1 kg/ha beim 2. Spritztermin (31. 5. 1955) eine ansehnliche Zahl 4-, 5-, 6- und 7-zähliger Blätter vorhanden war. Dabei nahm die Anzahl (in der Tabelle in % aller Blätter angegeben) der mehr als 3-zähligen Blätter bei Verwendung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Na mit steigender Zähligkeit stark ab.

Bei diesen Versuchen wurden neben der Blättrigkeit auch der Trockensubstanzertrag bei den einzelnen Schnitten bestimmt (Tabelle 1 und 2). Dabei ergab sich, daß durch jede Behandlung vielfach eine mehr als 50%ige Abnahme des Trockengewichtsertrages eintrat. Der geringste Verlust an Gesamttrockensubstanz trat bei 1 kg/ha 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Na, beim 3. Spritztermin (14. 6. 1955) ein, während 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Polyglycolester 400 (2 kg/ha) beim selben Spritztermin eine wesentlich höhere Schädigung (und zwar nur

Tabelle 2. *Einfluß der Besprühung mit Wuchsstoffen auf den Trockensubstanzertrag bei den verschiedenen Schnitten (I—IV) in g pro Gefäß*

Besprühung	Schnitt I 28.7.57	Schnitt II 17.8.55	Schnitt III 14.9.55	Schnitt IV 4.11.55	Gesamt
Keine	45,78	45,59	27,29	6,84	125,60
1,0 kg/ha 2,4-D-Na — 16. 5. 55	27,35	27,69	22,17	6,80	84,01
1,0 kg/ha 2,4-D-Na — 31. 5. 55	30,84	27,68	22,30	7,50	88,32
1,0 kg/ha 2,4-D-Na — 14. 6. 55	44,36	28,40	22,60	6,50	101,86
2,0 kg/ha 2,4-D-P — 16. 5. 55	7,08	18,41	20,55	5,25	51,29
2,0 kg/ha 2,4-D-P — 31. 5. 55	15,04	18,19	20,16	6,53	59,92
2,0 kg/ha 2,4-D-P — 14. 6. 55	21,60	11,71	14,13	4,86	52,30
Die obigen Zahlen betragen jeweils in % der unbesprühten Kontrolle					
1,0 kg/ha 2,4-D — 16. 5. 55	59,8	60,5	81,2	99,5	67,0
1,0 kg/ha 2,4-D — 31. 5. 55	67,4	60,5	81,7	109,5	70,4
1,0 kg/ha 2,4-D — 14. 6. 55	96,6	62,2	83,0	95,0	81,1
2,0 kg/ha 2,4-D-P — 16. 5. 55	15,5	49,3	75,3	76,7	40,8
2,0 kg/ha 2,4-D-P — 31. 5. 55	32,9	39,8	73,9	92,9	47,7
2,0 kg/ha 2,4-D-P — 14. 6. 55	47,2	25,6	51,8	71,2	41,6

41,6% des Gesamttrockengewichtes der Kontrollen) zeigte. Als wesentliches Ergebnis ist bei der Gegenüberstellung der Zähligkeitsveränderung (Tabelle 1) und der Trockensubstanzerträge (Tabelle 2) zu entnehmen, daß *die Anzahl an morphologisch veränderten Blättern nicht proportional dem Grad der Schädigung (Trockensubstanzverminderung)* ist. Zum Vergleich mit den Trockengewichtserträgen bei Klee nach 2,4-D-Polyglykolester-Spritzung wurden auch die Trockensubstanzerträge von Gerste nach Behandlung mit dem gleichen Wirkstoff (2 kg/ha) bestimmt (Tabelle 3).

Tabelle 3. *Trockensubstanzerträge von Gerste nach Besprühung der Pflanzen mit 2,0 kg/ha 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Polyglykolester 409 (in g/Gefäß)*

Behandlung	Körner (spelzenfrei)	Stroh	Gesamt
Ohne 2,4-D-P . .	31,41 ± 1,08	39,56 ± 0,82	71,66 ± 1,67
2,0 kg/ha 2,4-D-P	30,74 ± 1,06	39,78 ± 0,55	71,05 ± 0,76

Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, daß bei Gerste, im Gegensatz zu Klee, *kein* Verlust an Trockensubstanz als Folge der Wuchsstoffbesprühung eintrat. Bei den im Jahre 1956 durchgeführten Spritzversuchen mit verschiedensten Wuchs- und Hemmstoffen zeigte sich an den Kleepflanzen *je nach dem verwendeten Wirkstoff eine verschiedene Häufigkeit*

der mehrzähligen Blätter (Tabelle 4 und 5). Bei Tabelle 4 sind in vertikaler Folge die einzelnen Stoffe nach ihrer Wirksamkeit gestuft, horizontal ist die Blättrigkeit (1—8) aufgetragen. Die Häufigkeit wurde in ‰ aller zum Zeitpunkt des Schnittes vorhandenen Blätter errechnet. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß *2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na*, *2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na*, *2,3,5-Trijodphenoxyessigsäure* und

Tabelle 4. *Die Häufigkeit mehrzähliger Blätter bei Trifolium pratense nach Besprühung mit verschiedenen Stoffen in ‰ aller zum Zeitpunkt des Schnittes (17.8.1955) vorhandenen Blätter*

Behandlung mit	Gesamtzahl der Blätter	Anteil an 1-	2-	3-	4-	5-	6-	7-	8- zähligen Blättern[1]
2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na	796	31,9	50,1	821,1	36,6	35,1	15,1	1,2	1,2
2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na	1126	48,8	92,4	709,7	67,5	38,2	25,7	13,3	4,4
2,3,5-Trijodphenoxyessigsäure	935	4,3	6,4	965,7	19,3	4,3	0,0	0,0	0,0
2,3,5-Trijodbenzoesäure	953	54,5	115,2	748,5	64,0	14,7	3,1	0,0	0,0
2,4,5-Trichlorbenzoesäure	801	31,2	28,8	847,7	61,2	16,2	6,2	7,5	1,2
2-Oxy-3,5-Dichlorbenzoesäure	820	0,0	7,3	984,2	6,1	2,4	0,0	0,0	0,0
Dimethylthiuramessigsäure	874	3,4	1,1	977,2	10,3	8,0	0,0	0,0	0,0
N-(1-Naphthyl)-phthalamidsäure-Na	1194	100,3	117,1	701,4	56,1	14,2	8,4	2,5	0,0
3,5-Dinitro-2-methylbenzoesäure	763	0,0	0,0	989,5	9,2	0,0	0,0	0,0	1,3
Keine	850	2,3	1,2	994,2	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0

[1] Die Zwischenformen (1—2-zählig, 2—3-zählig usw.) wurden hier jeweils der nächsthöheren Zähligkeitsgruppe zugezählt (also 1—2 zu 2, 2—3 zu 3 usw.).

2,3,5-Trijodbenzoesäure die größte Wirkung in bezug auf Induktion von Mehrblättrigkeit zeigten.

Es war ferner interessant zu sehen, daß der Anteil an 3-zähligen Blättern bei allen geprüften Substanzen naturgemäß am größten, der Anteil an 8- und 1-zähligen dagegen am geringsten war. Wird auf der Ordinate eines Achsensystems die Anzahl der Blätter in ‰, auf der Abszisse die Zähligkeit (1—8) aufgetragen, so ergibt sich überraschenderweise bei den stärkst wirksamen Substanzen eine *Glockenkurve* mit einem sehr hohen Optimum bei den 3-zähligen Blättern. Die gleiche Feststellung konnte schon KAJANUS (1912) bei einer besonders zur Bildung von mehrzähligen Blättern neigenden Kleesorte *jedoch ohne jede experimentelle Beeinflussung* machen. Er konnte neben 582 dreizähligen,

60 vierzählige, 32 fünfzählige, 12 sechszählige, 7 siebenzählige, 6 achtzählige und 1 neunzähliges Blatt finden. *Die Wahrscheinlichkeit, daß mehrzählige Blätter entstehen, nimmt demnach mit zunehmender Blättchenzahl ab.*

In Tabelle 5 ist die Häufigkeit der Zähligkeitstypen in % aller bei der jeweiligen Substanz von der Normalform (3-zählig) abweichenden

Tabelle 5. *Die Häufigkeit der Zähligkeitstypen in % aller von der dreiblättrigen Norm abweichenden Blätter* (vgl. Tabelle 4)

Behandlung mit	Gesamtzahl der abnorm gebildeten Blätter		Anteil an 1-	2-	4-	5-	6-	7-	8- zähligen Blättern
	Zahl	%							
2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na	136	17,1	18,4	29,4	21,3	20,6	8,8	0,7	0,7
2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na	327	29,0	16,8	31,8	23,2	13,1	8,9	4,6	1,5
2,3,5-Trijodphenoxyessigsäure	32	3,42	12,5	18,7	56,3	12,5	0,0	0,0	0,0
2,3,5-Trijodbenzoesäure	240	25,2	21,6	45,8	25,4	5,8	1,4	0,0	0,0
2,4,5-Trichlorbenzoesäure	122	15,2	20,5	18,8	40,2	10,7	4,1	4,9	0,8
2-Oxy-3,5-Dichlorbenzoesäure	13	1,59	0,0	46,1	38,5	15,4	0,0	0,0	0,0
Dimethylthiuramessigsäure	20	2,29	15,0	5,0	45,0	35,0	0,0	0,0	0,0
N-(1-Naphthyl)-phthalamidsäure-Na	360	30,1	34,5	38,9	18,6	4,7	2,8	0,8	0,0
3,5-Dinitro-2-Methylbenzoesäure	14	1,83	0,0	0,0	50,0	42,9	0,0	0,0	7,1
Keine	4	0,47	40,0	20,0	40,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Blätter wiedergegeben. Daraus ist ersichtlich, daß der Anteil an 2- und 4-zähligen Blättern [mit Ausnahme bei N-(1-Naphthyl)-phthalamidsäure-Na, Dimethylthiuramessigsäure und 2,4,5-Trichlorbenzoesäure, bei denen der Anteil an 1-zähligen Blättern größer als der an 2-zähligen ist] stets am größten ist.

Bei den oben geschilderten Versuchen wurden zahlreiche chemische Substanzen herangezogen, die z. T. chemisch recht verschieden waren. Bei einem Vergleich der verwendeten Stoffe mit ihrer Zellstreckungswirksamkeit im Pastentest (Linser 1938, 1953; Linser und Kiermayer 1956) konnte *keine direkte Beziehung zwischen Zellstreckungswirksamkeit und formativer Wirkung gefunden werden.* Es scheint allerdings, daß der formative Effekt einer Substanz weniger von deren zellstreckungs-fördernder Wirksamkeit (Wuchsstoffwirksamkeit) als vielmehr von der zellstreckungshemmenden Wirkung (Hemmstoffwirkung) abhängig ist.

Wie aus Tabelle 6 (in der die verwendeten Stoffe nach ihrem Vervielfachungsfaktor, und zwar nach fallender formativer Wirksamkeit geordnet sind), ersichtlich ist, sind die stärksten Hemmstoffe wie z. B. 2,4,6-T-Na oder 2,3,5-TJB auch die am stärksten formativ wirksamen Stoffe. Andererseits sind aber die äußerst starken Hemmstoffe wie 4,6-Dinitro-o-kresol oder Dinitro-sek.-butylphenol nur ganz schwach wirksam. Eosin, das die bisher stärkste zellstreckungshemmende Wirkung entfaltet (LINSER 1953), war fast vollkommen wirkungslos. Wuchsstoffe wie Indol-3-essigsäure oder Indol-3-acetonitril zeigten ebenfalls keine Wirkung.

Tabelle 6. *Die untersuchten Stoffe, als Morphoregulatoren geordnet nach Wirksamkeitsfaktoren, verglichen mit den Werten ihrer Zellstreckungswirkung*

Substanz	Vervielfachungsfaktor	Molare Halbwerts-Hemmungs-Konzentration	Umschlagspunkt	Molares Optimum	Zuwachsförderung Z-%	Charakteristik
N-1-(Naphthyl)phthalamidsaures Na	63,9	$3 \cdot 10^{-3}$	—	—	—	H
2,4,6-Trichlorphenoxyessigsaures Na	61,7	$2 \cdot 10^{-1}$	—	—	—	H
2,3,5-Trijodbenzoesäure	53,5	$3 \cdot 10^{-4}$	—	—	—	H
2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure	36,3	$2 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	H
2,4,5-Trichlorbenzoesäure	32,4	$5 \cdot 10^{-3}$	—	—	—	H
2,3,5-Trijodphenoxyessigsäure	7,3	$8 \cdot 10^{-4}$	—	—	—	H
N-Dimethylthiuramessigsäure	4,9	$3 \cdot 10^{-1}$	$2 \cdot 10^{-1}$	$2 \cdot 10^{-2}$	15—20	W
3,5-Dinitro-2-methylbenzoesäure	3,9	$5 \cdot 10^{-1}$	—	—	—	H
2-Hydroxy-3,5-Dichlorbenzoesäure	3,4	$2 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	H
4,6-Dinitro-o-kresol	1,8	$7 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-5}$	10^{-5}	5—15	H
Dinitro-o-sek.-butylphenol	1,3	$6 \cdot 10^{-4}$	—	—	—	H
2,4-Dichlorphenol	1,1	$6 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	H
2,5-Dichlorphenoxyessigsaures Na	1,0	10^{0}	10^{0}	10^{-1}	40	W
Bis-3,5-Dichlorphenoxyessigsäure	1,0	$9 \cdot 10^{-3}$	—	—	—	H
Bis-2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	1,0	10^{-3}	—	—	—	H
Eosin	1,0	$5 \cdot 10^{-5}$	—	—	—	H
Indol-3-essigsaures Na 10^{-1}%	1,0					
10^{-0}%	0,0	—	—	$5 \cdot 10^{-3}$	105—110	W
Indol-3-buttersaures Na	0,0	—	—	10^{-2}	75—80	W
α-Naphthylessigsaures Na	0,0	10^{0}	10^{-1}	$2 \cdot 10^{-3}$	80—90	W
β-Naphthoxyessigsaures Na	0,0	—	—	—	—	—
4,5-Dinitro-2-methylbenzoesäure	0,0	$4 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	H
Monojodessigsäure	0,0	$2 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	H
Pentachlorphenol	0,0	$2 \cdot 10^{-3}$	—	—	—	H
Cyanessigsäureallylester	0,0	$4 \cdot 10^{-2}$	—	—	—	H

Bei 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Na und 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure-Na trat ein starker herbizider Effekt ein.

In Tabelle 6 sind neben dem Vervielfachungsfaktor, der sich aus der Zahl der morphologisch abweichend ausgebildeten Blätter bei Wuchsstoffbehandlung, geteilt durch die Zahl der morphologisch abweichend ausgebildeten Blätter der Kontrolle, berechnet, auch die molare Halbwertshemmungskonzentration, der Umschlagspunkt, das molare Optimum, das Förderungsoptimum in Zuwachs-% (Z-%) sowie die Charakteristik (W = Wuchsstoff, H = Hemmstoff) wiedergegeben. Diese Werte können an Hand der für die jeweilige Substanz im Pastentest (Linser 1938) bestimmten Konzentrationswirkungskurven abgelesen werden. In Abb. 3 ist schematisch eine Konzentrationswirkungskurve wiedergegeben, auf der die in Tabelle 6 angeführten Kardinalpunkte durch Pfeile gekennzeichnet sind. Auf der Ordinate ist jeweils der prozentuelle Längenzuwachs der behandelten *Avena*koleoptilen gegenüber den Kontrollen (Z-%), auf der Abszisse der Logarithmus der Wirkstoffkonzentration in Mol aufgetragen. Nachdem — wie aus Tabelle 6 ersichtlich — kein direkter Zusammenhang zwischen zellstreckungsfördernder oder -hemmender Wirkung und formativer Wirksamkeit gefunden werden konnte, scheint es uns zweckmäßig, die zu morphologischen Veränderungen fähigen Substanzen als „*Morphoregulatoren*" zusammenzufassen. Solche „Morphoregulatoren" können gleichzeitig auch Zellstreckungs-Wuchs- oder -Hemmstoffe sein oder andere physiologische Wirkungen ausüben (vgl. dazu Linser und Kirschner 1957).

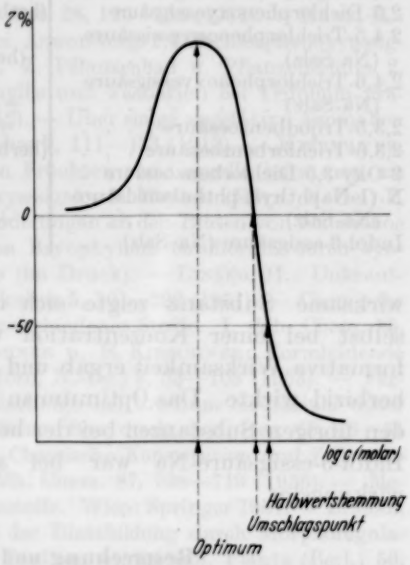


Abb. 3. Schema einer Konzentrations-Wirkungskurve, wie sie im Pastentest für einen typischen Wuchsstoff erhalten wird. Auf der Ordinate ist der Längenzuwachs der behandelten Koleoptilen gegenüber den Kontrollen, auf der Abszisse die Wuchsstoffkonzentration aufgetragen

Um den Einfluß der Wirkstoffkonzentration der morphologisch wirksamen Substanzen zu untersuchen, wurden Kleepflanzen (bei gleicher Versuchsanlage wie oben) mit 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-Na, 2,5-Dichlorphenoxyessigsäure, 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure-Na, 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure-Na, 2,3,5-Trijodbenzoesäure, 2,3,6-Trichlorbenzoesäure, 2-Oxy-3,5-Dichlorbenzoesäure, N-(1-Naphthyl)-phthalamidsäure-Na und Indol-3-essigsäure-Na *bei verschiedenen Konzentrationen* ($2{,}5 \times 10^{-1}$%ig bis $2{,}5 \times 10^{-4}$%ig) besprüht. Die einstweilen orientierenden Versuchsergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengestellt. Als stärkst

Tabelle 7. *Formative Wirksamkeit einiger Morphoregulatoren bei verschiedener Konzentration (herb. = herbizid wirksam)*

Substanz	Konzentration in %			
	$2{,}5 \cdot 10^{-1}$	$2{,}5 \cdot 10^{-2}$	$2{,}5 \cdot 10^{-3}$	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (Na-Salz)	(herb. ++)	++	+	−
2,5-Dichlorphenoxyessigsäure	(herb. +++)	+	−	−
2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (Na-Salz)	(herb. +)	−	−	(+)
2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure (Na-Salz)	++++	+	−	−
2,3,5-Trijodbenzoesäure	+++	+	−	−
2,3,6-Trichlorbenzoesäure	(herb. +++)	(herb. +++)	+++	−
2-Oxy-3,5-Dichlorbenzoesäure	++	+	−	−
N-(1-Naphthyl)-phthalamidsäure (Na-Salz)	+++	++	−	−
Indol-3-essigsäure (Na-Salz)	−	−	−	−

wirksame Substanz zeigte sich dabei 2,3,6-Trichlorbenzoesäure, die selbst bei einer Konzentration von $2{,}5 \times 10^{-3}\%$ noch sehr starke formative Wirksamkeit ergab und bei höheren Konzentrationen schon herbizid wirkte. Das Optimum an morphologischer Wirksamkeit lag bei den übrigen Substanzen bei der höchsten Konzentration ($2{,}5 \times 10^{-1}\%$). Indol-3-essigsäure-Na war bei allen Konzentrationen vollkommen wirkungslos.

Besprechung und Zusammenfassung

In vorliegender Abhandlung wird über starke morphologische Veränderungen an Rotklee-Pflanzen *(Trifolium pratense)* durch den Einfluß synthetischer Wuchs- und Hemmstoffe berichtet. Als besonders stark formativ wirksam wurden neben 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (Na-Salz) vor allem *2,3,6-Trichlorphenoxyessigsäure (Na-Salz)*, 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure (Na-Salz), 2,3,5-Trijodphenoxyessigsäure und 2,3,5-Trijodbenzoesäure gefunden. Daneben verursachten aber auch noch mehrere andere Substanzen, insbesondere Maleinsäurehydrazid, starke morphologische Veränderungen an den Kleepflanzen. Als auffallendste Formbildungsabweichungen wurden *verschmälerte, gerollte und trompeten- oder trichterförmige Kleeblätter* festgestellt. In allen Fällen trat eine *Erhöhung oder Erniedrigung der Zähligkeit der Blätter* ein, so daß alle Übergänge von 1-zähligen bis zu 9-zähligen Blättern gefunden werden konnten. Es war auffallend, daß dabei der zahlenmäßige Anteil an 2- und 4-zähligen Blättern am größten war, während die Anzahl der 5-, 6-, 7- bis 9-zähligen Blätter mit steigender Zähligkeit abnahm.

Nachdem Zellstreckungs-Wuchs- und -Hemmstoffe, aber auch zellstreckungsneutrale Stoffe (z. B. Maleinsäurehydrazid), morphologische

Veränderungen hervorrufen, scheint es zweckmäßig, alle jene Stoffe, die formative Effekte hervorrufen können, unabhängig von ihren anderen Eigenschaften (z. B. Zellstreckungswirkung) als „*Morphoregulatoren*" zusammenzufassen.

Literatur

Bruns, A.: Die Auslösung von Mutationen durch Röntgenbestrahlung ruhender Samen von Trifolium pratense. Angew. Bot. **28**, 120—155 (1954). — Hanf, M.: Wuchsschädigungen und Mißbildungen bei Anwendung 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-haltiger Unkrautbekämpfungsmittel. Z. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **2**, 145—162 (1951). — Kajanus, B.: Polyphyllie und Fasziation bei Trifolium pratense L. Z. Abstammgslehre **7**, 63—71 (1912). — Über einige vegetative Anomalien bei Trifolium pratense L. Z. Abstammgslehre **9**, 111—133 (1913). — Kiermayer, O.: Morphologische Veränderungen an den Früchten von Capsella bursa-pastoris durch den Einfluß von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure. Phyton (Horn, N.-Oe.) **7**, 183—185 (1957 a). — Morphologische Veränderungen an den Blüten von Kalanchoe Blossfeldiana, sowie den Brutpflanzen von Bryophyllum tubiflorum durch synthetische Wuchs- und Hemmstoffe. 1957 b (im Druck). — Linser, H.: Unkrautbekämpfung auf hormonaler Basis. Bodenkultur **5**, 191—222 (1951). — Chemische Konstitution und Zellstreckungswirkung verschiedener Stoffe. I. Mh. Chem. **85**, 196—226 (1954). — Linser, H., W. Frohner u. R. Kirschner: Formbildende Wirkungen von Wuchsstoffen. Phyton (Horn, N.-Oe.) **3**, 53—108 (1953). — Veränderungen von Blattmorphologie und Blattfolge bei Erodium cicutarium unter dem Einfluß von Phenoxyessigsäurederivaten. Ber. dtsch. bot. Ges. **68**, 46—51 (1955). — Linser, H., u. O. Kiermayer: Chemische Konstitution und Zellstrekkungswirkung verschiedener Stoffe. II. Mh. Chem. **87**, 708—719 (1956). — Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchsstoffe. Wien: Springer 1957. — Linser, H., u. R. Kirschner: Zur Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. I. Die Einwirkung von 2,4-D auf Erodium cicutarium. Planta (Berl.) **50**, 211—237 (1957). — Penzig, O.: Pflanzen-Teratologie, 2. Aufl., Bd. 1. Berlin 1921. — Thaler, I., u. F. Weber: Ein merkwürdiges Trifolium pratense mit mehrzähligen Blättern. Phyton (Horn, N.-Oe.) **6**, 73—75 (1955). — Tumanov, J. J., i A. A. Lizandr: On the physiological action of triiodobenzoic-acid upon plants. J. Bot. URSS. **31** (3), 13—21 (1946). — Vries, de Hugo: Die Mutationstheorie, Bd. 1. Leipzig 1901. — Wenck, U.: Die Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Blattform. Z. Bot. **40**, 33—51 (1952).

Priv.-Doz. Dr. H. Linser, Dr. O. Kiermayer, Dr. R. Jarosch,
Biologische Forschungsabteilung der Österreichischen Stickstoffwerke AG,
Linz a. d. Donau, Haag 19 (Österreich)

Planta, Bd. 50, S. 250—261 (1957)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

ZUR KENNTNIS VON EPILOBIUM*

II. Teil:

ENTWICKLUNGSGESCHICHTE DES SPROSSES

Von

MICHAEL BRAUN

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. August 1957)

Verglichen mit der Fülle der histologischen Untersuchungen an Vegetationspunkten ist die Zahl der Studien, die sich mit dem äußeren Formwechsel des Sproßscheitels während des Plastochrons und mit der Veränderung des Vegetationskegels von der Keimung bis zur Blütenbildung beschäftigen, recht gering. Der Sammelbericht von GIFFORD (1950) und die Übersicht über die neueste Literatur bei SENGHAS (1956) zeigen das deutlich genug. Ein Beitrag in dieser Richtung wird also nicht unerwünscht sein.

Die Sproßgipfel, angefangen von der Keimpflanze bzw. der Stockknospe bis zum Übergang in die florale Region, wurden in Zeitabständen von 6—10 Tagen nach CARNOY oder BOUIN fixiert, mit Lichtgrün gefärbt und in Paraffin übergeführt. Vor dem Schneiden wurden die Ebenen für die medianen Längsschnitte am Objekt mit einer Rasierklinge unter dem Binokular festgelegt. — Die Schnittdicke betrug 4—7 μ. Zum Zeichnen wurde ein Projektionsmikroskop verwendet (ähnlich wie bei ZIMMERMAN 1928).

A. Der Formwechsel des Vegetationspunktes einer Keimpflanze

Die Entstehung des Embryo von *Epilobium montanum* ist in den Frühstadien von LEBÈGUE (1948) eingehend dargestellt worden; seine Untersuchung schließt mit der Abbildung eines eben zweilappig werdenden Embryo ab. Ebenso weit verfolgt BARTELS (1956) die Entwicklung des „Proembryo" von *E. hirsutum*. Der Längsschnitt des Vegetationspunktes zeigt bei LEBÈGUE (Abb. 18) 5 Zellen im Dermatogen, die der Autor zum Vegetationspunkt rechnet; im fertigen Samen von *E. hirsutum* ist die Anzahl dieser Zellen auf 9 vermehrt (Abb. 1 a und b), in der dazu senkrechten Richtung, parallel zur Fläche der Kotyledonen, hat die ganz flache Kuppe beträchtliche Ausdehnung. Kurz- und Langseiten des Vegetationspunktes (A. SCHMIDT 1924) sind also in diesem Primordialzustand sehr verschieden lang. Ein eben gekeimter Samen, kurz vor der Ausgliederung des ersten Blattpaares in der zu der dargestellten Medianebene senkrechten Alternanzfläche (BUDER), zeigt den

* Teil 2 einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München. 1. Teil erschienen in Planta 50, S. 144—176.

Vegetationspunkt schon stärker gewölbt, die durch antiklinale Teilungen vermehrten Zellen des Dermatogens ebenso wie die der Subepidermalschicht senkrecht zur Oberfläche gestreckt (Abb. 1c).

Nach der vollen Entfaltung der Keimblätter ist der Sproßscheitel zwischen ihren Basen schon ziemlich verändert (Abb. 1d, e). Weiterhin wird deutlich, wie die Gestalt des Vegetationspunktes sich rhythmisch im Zusammenhang mit der Bildung gekreuzter Blattpaare ändert. Zu Beginn des Plastochrons ist die „Maximalfläche" (A. SCHMIDT) des Vegetationspunktes in der Aufsicht elliptisch (vgl. Abb. 3a von einem älteren Sämling), durch die Bildung zweier Blattprimordien wird er von den Kurzseiten her bis auf eine Minimalfläche von der Breite weniger Zellen aufgezehrt, um sich im

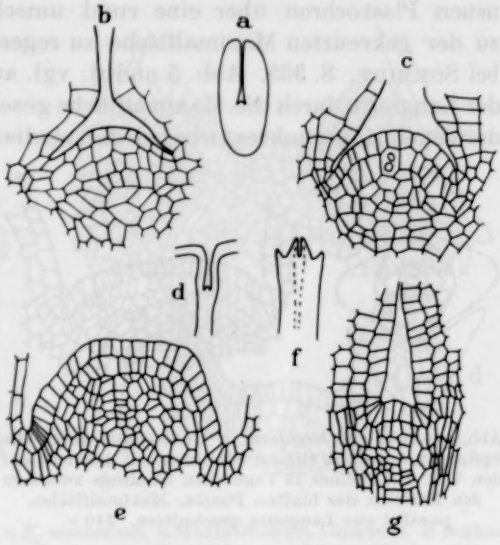


Abb. 1a—g. *E. hirsutum*. a Embryo aus reifem Samen (22×), b dessen Vegetationspunkt (240×), c V.P. von gekeimtem Samen (240×), d—g Sämlinge nach voller Entfaltung der Keimblätter, d 9×, f 21×, e und g 240×

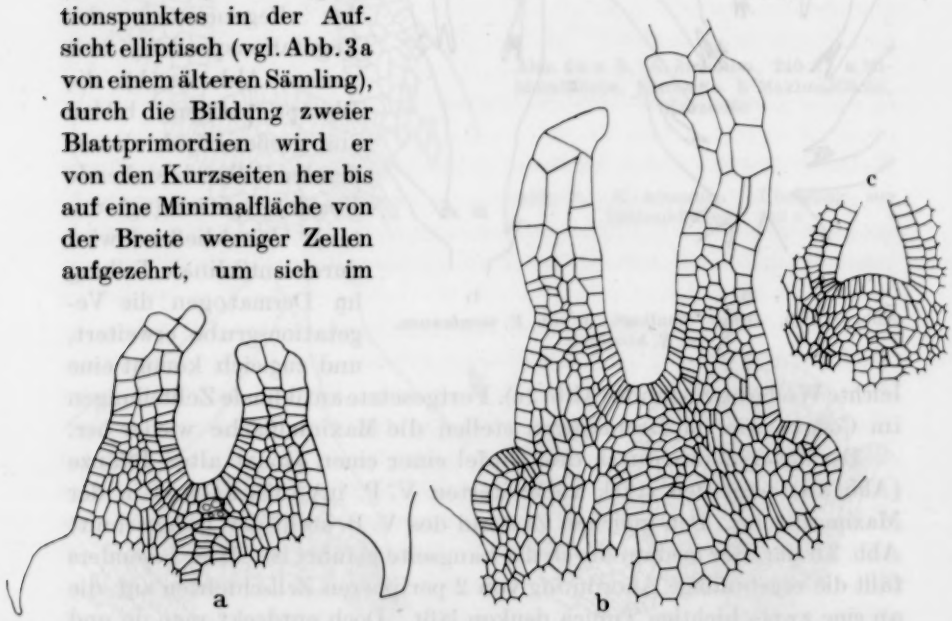
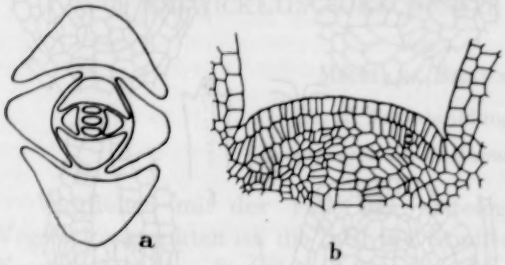


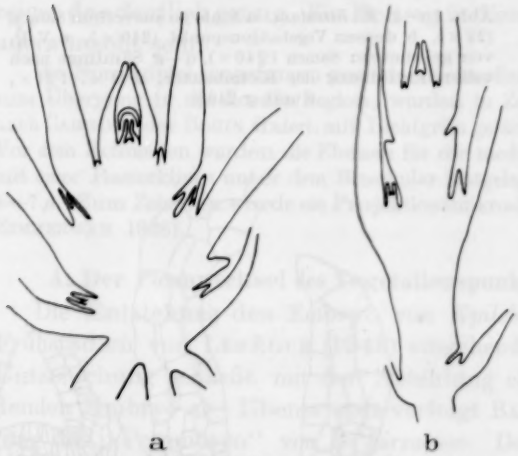
Abb. 2a—c. a und b *E. montanum*, viertes Blattpaar zweier Sämlinge, junge Blattanlagen mit Vorläuferspitze. c *E. hirsutum*, Blattanlagen etwas älter, Scheitelgrube erweitert. 240×

neuen Plastochron über eine rund umschriebene Phase weg wieder zu der gekreuzten Maximalfläche zu regenerieren (schematische Bilder bei SCHMIDT, S. 365, Abb. 5 und 6; vgl. auch SCHÜEPP 1929). Parallel der Langseite durch die Maximalfläche geschnitten, ist die breite Kuppe des Vegetationspunktes zwischen den median geschnittenen Kotyledonen zu sehen in Abb. 1 d und e. Abb. 1 g gibt einen parallel zu den Keimblättern geführten Schnitt gleicher Altersstufe wieder, in dem die beiden ersten Laubblätter auf einen Abstand von einem halben Dutzend Zellen genähert stehen; in Abb. 1 b sind Teile der längsgeschnittenen Kotyledonen zu sehen, weil die Basen ihrer Stiele den Vegetationspunkt ein sehr kurzes Stück weit röhrig umfassen.



a b

Abb. 3 a u. b. *E. hirsutum*. a Querschnitt durch die Spitzenknospe eines älteren Sämlings, mit Aufsicht auf den V.P. b VP eines 29 Tage alten Sämlings zwischen den Blättern des fünften Paares, Maximalfläche, parallel zur Langseite geschnitten. 240 ×



a b

Abb. 4 a u. b. Junge Sämlinge, a von *E. montanum*, b von *E. hirsutum*

Die Blattbildung eilt der Regeneration des Vegetationspunktes weit voraus (Abb. 2 a, b); die Blattprimordien bilden aus großen, früh absterbenden Zellen bestehende Vorläuferspitzen (vgl. unten). Anschließend wird durch antiklinale Teilung im Dermatogen die Vegetationsgrube erweitert, und zugleich kommt eine leichte Wölbung zustande (Abb. 2 c). Fortgesetzte antiklinale Zellteilungen im Corpus wie im Dermatogen stellen die Maximalfläche wieder her.

Der Querschnitt durch den Gipfel einer einen Monat alten Pflanze (Abb. 3 a) zeigt den stark verbreiterten V. P. in Aufsicht und in der Maximalfläche. Den gleichen Zustand des V. P. stellt der Längsschnitt Abb. 3 b dar, der median durch die Langseite geführt ist. Hier besonders fällt die regelmäßige Anordnung von 2 peripheren Zellschichten auf, die an eine zweischichtige Tunica denken läßt. Doch entdeckt man da und dort in der subepidermalen Schicht periklinale Zellwände (Abb. 2 a, c),

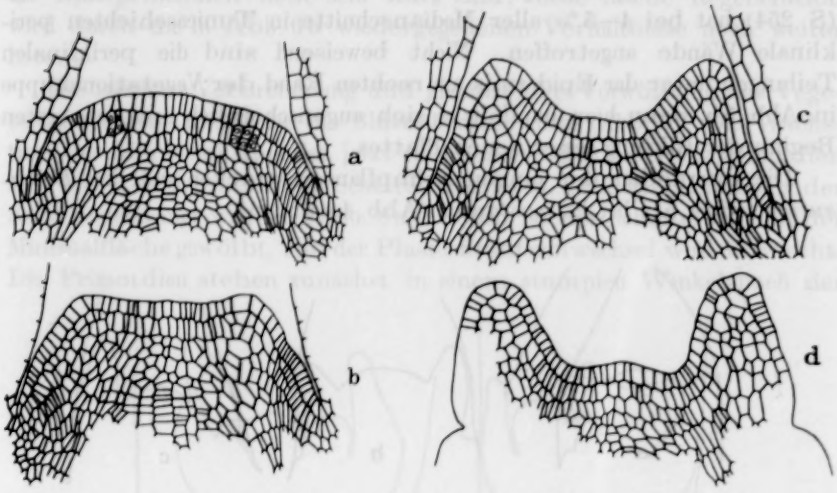


Abb. 5a—d. a, b und d *E. hirsutum*, c *E. montanum*. a Maximalfläche, Langseite. b Beginn der Blattbildung, Trapezform. c Fortschreiten der Blattbildung. d Minimalfläche. 240 ×

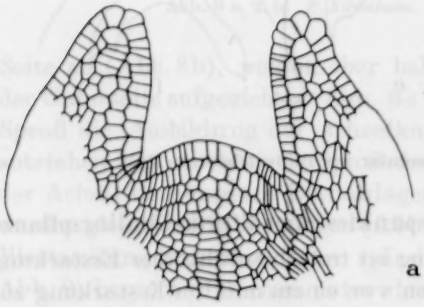


Abb. 6a u. b. *E. hirsutum*. 240 ×. a Minimalfläche, Kurzseite. b Maximalfläche, Kurzseite

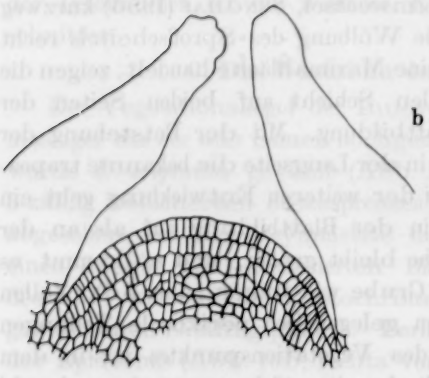


Abb. 6a u. b

Abb. 7. *E. hirsutum*. Übergang zur Blütenbildung. 240 ×

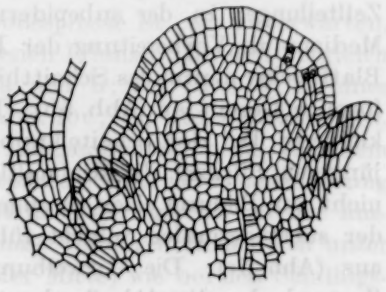


Abb. 7

die diese Schicht dem Corpus zuzuweisen scheinen. JENTSCH allerdings (S. 254) hat bei 4—5% aller Medianschnitte in Tunicaschichten periklinale Wände angetroffen. Nicht beweisend sind die periklinalen Teilungen unter der Epidermis am rechten Rand der Vegetationskuppe in Abb. 3b, denn hier handelt es sich augenscheinlich um den ersten Beginn der Bildung eines neuen Blattes.

Die Internodien der jungen Keimpflanzen strecken sich bei *E. hirsutum* früher als bei *E. montanum* (Abb. 4a und b).

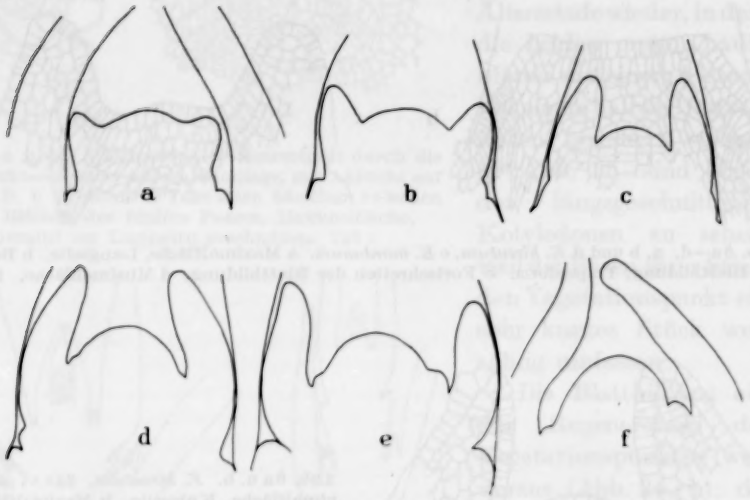


Abb. 8a—f. *E. hirsutum*. Übergang zur Blütenbildung. 100 ×

B. Der Formwechsel des Vegetationspunktes einer älteren Sämlingspflanze

Etwa 2 Monate nach der Keimung ist trotz beträchtlicher Erstarkung — TROLL und RAUH (1950) sprechen von einem mit der Erstarkung zusammenhängenden irreversiblen Formwechsel, SENGHAS (1956) kurzweg von Erstarkungsformwechsel — die Wölbung des Sproßscheitels recht mäßig. Daß es sich in Abb. 5a um eine Maximalfläche handelt, zeigen die Zellteilungen in der subepidermalen Schicht auf beiden Seiten der Mediane als Vorbereitung der Blattbildung. Mit der Entstehung der Blatthöcker nimmt das Schnittbild in der Langseite die bekannte trapezförmige Gestalt an (Abb. 5b). Bei der weiteren Entwicklung geht ein kleinerer Teil der Scheitelkuppe in der Blattbildung auf als an der jüngeren Pflanze; die Minimalfläche bleibt größer, und so kommt es nicht zur Bildung einer so engen Grube wie früher (Abb. 5d). Zellen der subepidermalen Schicht führen gelegentlich periklinale Teilungen aus (Abb. 5c). Die Vorwölbung des Vegetationspunktes ist in dem Zustand, den die Abb. 6a darstellt, bereits stärker geworden, obwohl

die Blattprimordien noch sehr kurz sind; diese rasche Regeneration wird durch die in Abb. 6b wiedergegebenen Verhältnisse noch weiter betont.

Die stärkste Verbreiterung und gleichzeitige Vorwölbung des Vegetationspunktes findet vor der Blütenbildung statt (Abb. 7). Das Wachstum der Meristemkuppe ist jetzt so intensiv, daß die Blattprimordien sich schon nicht mehr am Scheitel inserieren, sondern ganz nach der Seite abgedrängt werden (Abb. 8a). Somit ist der Scheitel auch in der Minimalfläche gewölbt, und der Plastochronformwechsel wird verwischt. Die Primordien stehen zunächst in einem stumpfen Winkel nach der

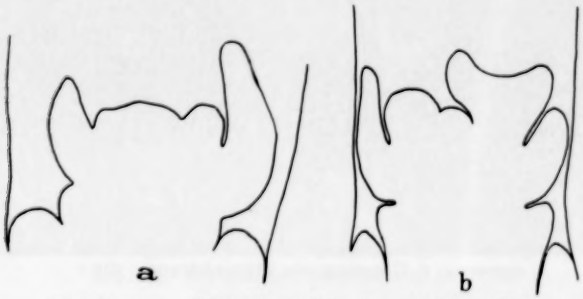


Abb. 9a u. b. *E. hirsutum*. Sehr junge Blütenanlagen

Seite ab (Abb. 8b), werden aber bald durch eine Wachstumsförderung der Unterseite aufgerichtet (Abb. 8c und d). Während beim vegetativen Sproß die Ausbildung der Achselknospen der Blattbildung nachhinkt, entstehen am generativen Sproßabschnitt die Seitenknospen schon in der Achsel der jüngsten Blattanlagen (Abb. 8d und e). Diese Knospen werden gleich zu Blütenanlagen (Abb. 9). Die Auflösung der decussierten Blattstellung zugunsten einer spiraligen (Abb. 8f; noch deutlicher in Abb. 9) beginnt oft schon unter der Blütenregion. Frühere Streckung der Internodien ist ein weiteres Kennzeichen des reproduktiven Abschnittes.

C. Das Wachstum der Innovationssprosse

Der Vegetationskegel der Innovationssprosse ist, wie zu erwarten, massiger als der aus Samen hochgezogenen Pflanzen; für den Vergleich wurde *E. trigonum* gewählt (Abb. 10a und b; 11). Der V. P. eines 3-zählig beblätterten Stocksprosses (Abb. 10c; 12) unterscheidet sich, abgesehen von der Asymmetrie des Längsschnittes, nicht von dem eines solchen mit decussierten Blattpaaren. Die Volumenänderung des V. P. während des Plastochrons ist noch geringer als bei der ausgewachsenen Sämlingspflanze. Periklinale Teilungen finden sich unter der Epidermis (Abb. 10b, rechts von der Mitte) wie bei den Sämlingspflanzen (vgl. oben S. 252/4). Danach könnte man auch hier meinen, die

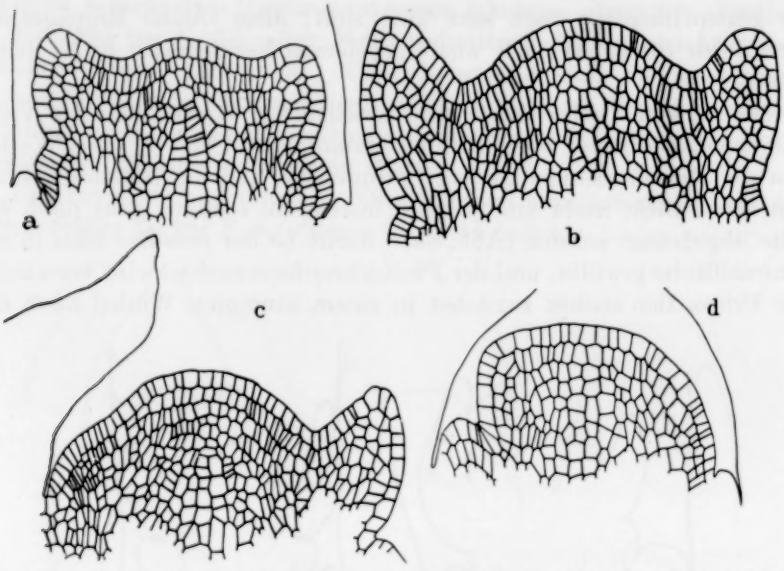


Abb. 10a—d. E. *trigonum*. Vegetationskegel a eines Sämlings, b und c von Erneuerungssprossen. d Übergang zur Blütenbildung. 240 ×

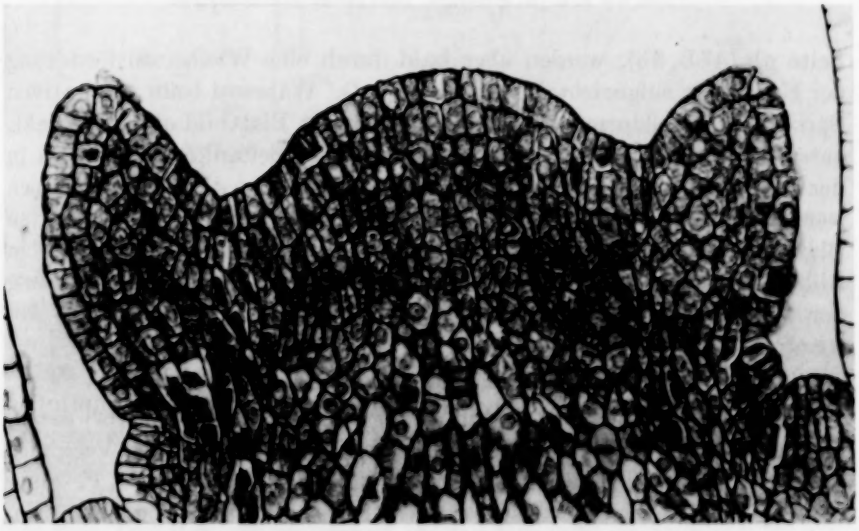


Abb. 11. *E. trigonum*. Dasselbe wie Abb. 10b

Tunica sei einschichtig. Aber ein Erneuerungssproß des Bastards *E.* (*trigonum* × *montanum*) trat in albotunicater Form auf, was nur beim Vorhandensein einer zweiten Tunicaschicht möglich ist. Grün war nur ein meist sehr schmales Feld an der Mittelrippe, und hier lag, wie an

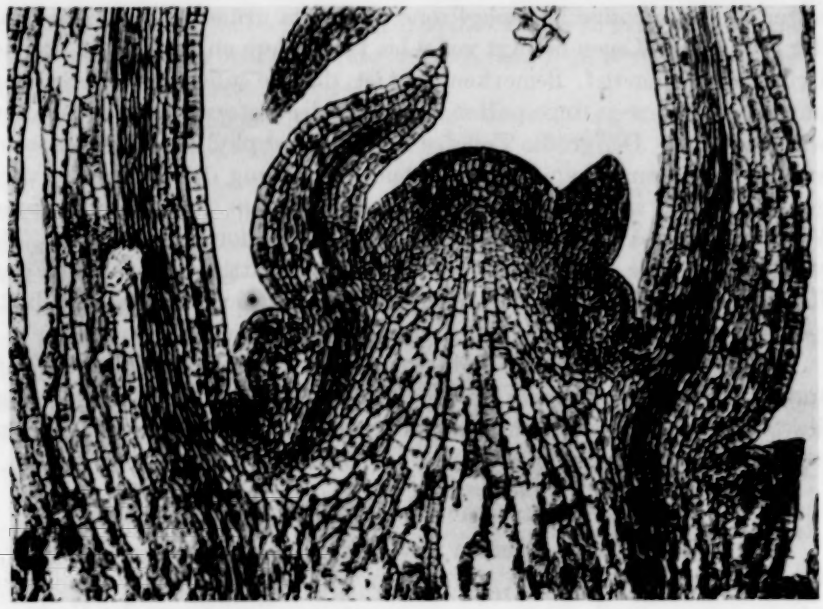


Abb. 12. *E. trigonum.* Dasselbe wie Abb. 10c

Abb. 13. *E. trigonum.* Beginn der Blütenbildung

Querschnitten festgestellt wurde, innerhalb der Epidermis eine farblose, Leukoplasten statt Chloroplasten führende, oben immer einschichtige,

unten 3—4-schichtige Mesophyllzone über dem grünen Kern. Die Zahl der grünen Zell-Lagen beträgt von 4 bis 1, und dem entsprechend ist das Grün verschieden tief. Bemerkenswert ist, daß die subepidermale Schicht nur auf der Oberseite ungespalten bleibt, auf der Unterseite sich aufspaltet wie am Rand. Der größte Teil des Spreitenmesophylls war farblos, also aus der farblosen Subepidermalen ohne Beteiligung des Corpus hervorgegangen. Die obersten Blätter waren sogar ganz weiß, somit unter Verdrängung des Corpus entstanden. — Auch MICHAELIS (1957, S. 78) stellt fest: „Das Parenchym der *Epilobium*-Blattlamina geht in der Regel aus *einer* Zellage der hypodermalen Schicht hervor". Seine Abb. 2, rechts, zeigt genau das gleiche Bild wie unser variegater Sproß.

Der Übergang zur Blütenbildung vollzieht sich bei *E. trigonum* nicht anders als bei *E. montanum* und *hirsutum*, unter starker Hochwölbung des Scheitels, und natürlich stimmen auch die Sämlingspflanzen hierin mit den Erneuerungssprossen überein (Abb. 10d; 13).

D. Die Vorläuferspitzen an den Laubblättern von Epilobium

OLIVER (1858) und RUBNER beschreiben einen „Anhang von verhältnismäßig beträchtlicher Größe" an den Innovationsblättern von *Epilobium*; das Vorhandenseindesselben Organs auch an den Sämlingspflanzen, und zwar an den Primärblättern wie an den späteren Laub- und den Hochblättern, scheint ihnen entgangen zu sein (vgl. RENNER u. Mitarb.). Die Primärblätter haben ein farbloses Anhängsel, das alsbald abfällt und daher der Beobachtung leicht entgeht. An den folgenden Blättern ist die feine bräunliche Spitze länger zu sehen (Abb. 14).

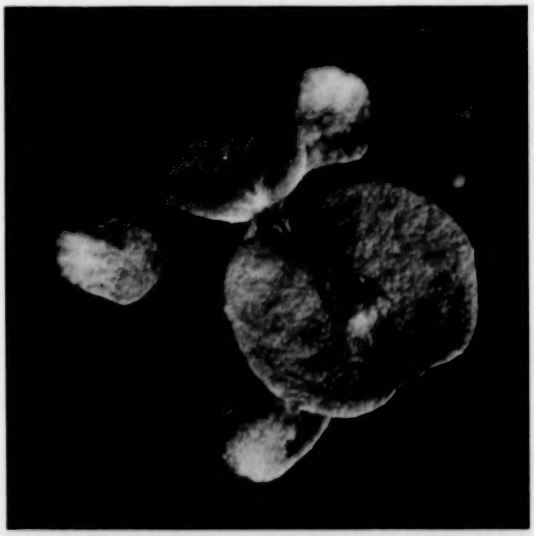


Abb. 14. Trikotyler Sämling von *E. montanum*, vergrößert. Übergang zu decussierter Blattstellung über ein Doppelblatt. Am zweiten Blattpaar die Vorläuferspitzen sichtbar, rechtwinklig abgebogen

Es handelt sich um sehr zarte, zylindrische Vorläuferspitzen, die, aus großen, farblosen, plasmaarmen Zellen gebildet, sich sehr früh ausdifferenzieren (Abb. 15; 2a und b, 6a). Eine aus Epidermiszellen entstandene Röhre umschließt im Endteil des Anhängels eine einzige

Zellreihe, weiter unten einen dickeren Zellkörper. Nach ihrem Bau könnte man die fraglichen Gebilde, die sich sehr früh nach außen biegen und bald vertrocknen, endständige Zotten nennen.

Bringt man die Samen in einer Keimröhre oder einer Petrischale zum Keimen, so haben die Keimlinge regelmäßig zwischen den Kotyledonen über den Primärblättern einen Tropfen Wasser. Ob es sich dabei um eine Ausscheidung der „Vorläuferspitzen" handelt, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden.

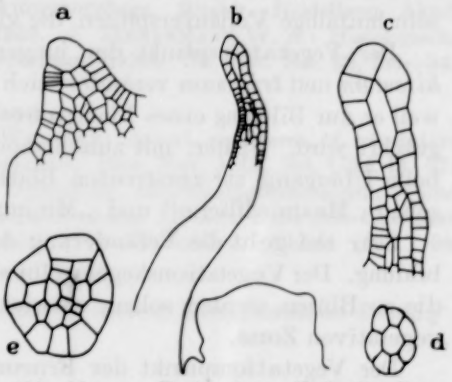


Abb. 15a—e. *E. hirsutum*, Vorläuferspitzen a Erster Beginn der Bildung am jüngsten Blatt paar, b und c weiter entwickelt vom dritt jüngsten Blattpaar, d und e Querschnitte durch Spitze und Basis. b 105 ×, das übrige 240 ×

Die echten Vorläuferspitzen der Kelchblätter haben ganz andere Beschaffenheit, sind derb und gedrungen, an der reifen Blüte wenig ansehnlich (vgl. Barbey 1885; Entwicklungsgeschichte bei Kowalewicz).

Besprechung

Die entwicklungsgeschichtliche Untersuchung hat, wie zu erwarten war, keine Überraschungen gebracht. Der Plastochronformwechsel entspricht den Vorgängen, die für andere Pflanzen mit kreuzgegenständigen Blättern beschrieben sind, z. B. für *Hypericum* (Zimmermann), *Acer* (Schüepp), *Hydrangea*, *Philadelphus* und *Deutzia* (Jentsch). Der Erstarkungsformwechsel am Sämling ist bei der Kleinheit des Embryo sehr ausgeprägt; die Höhe der Erstarkung wird mit dem Eintritt in die florale Phase erreicht. Die starke Wölbung des Vegetationspunktes und die Verfrühung der Achselsproßentwicklung beim Übergang zur Blütenbildung hat bereits Philipson (1947) an *Valeriana officinalis* beschrieben, und unsere Beobachtungen an *Epilobium* sind den seinen durchaus ähnlich, nur ist bei *Epilobium* die akropetale Förderung der Seitenknospen beim Blühbeginn noch ausgeprägter. Die Bildung eines „Meristempflocks" (Rauh u. Reznik, Jentsch) ist nicht so ausgeprägt wie bei *Hydrangea* und *Philadelphus*, und der Übergang vom Gewebemuster der vegetativen zu dem der floralen Region vollzieht sich ganz allmählich (vgl. dazu Gifford 1954. S. 491; Gifford und Wetmore 1957, S. 571). Eine Besonderheit von *Epilobium* gegenüber *Valeriana* und den Saxifragaceen ist der Übergang von decussierter zu zerstreuter Blattstellung vor der Blütenbildung. — Die Entwicklung der Blüte ist wiederholt und neuerdings von Kowalewicz geschildert worden.

Zusammenfassung

Die Laubblätter der untersuchten Epilobien besitzen sehr zarte, sehr hinfällige Vorläuferspitzen, die vielleicht als Hydathoden fungieren.

Der Vegetationspunkt der jungen Keimsprosse von *E. montanum*, *hirsutum* und *trigonum* verändert sich während eines Plastochrons stark, weil er zur Bildung eines Blattpaares jeweils zu einem großen Teil aufgezehrt wird. Später, mit zunehmendem Scheitelumfang, und vollends beim Übergang zur zerstreuten Blattstellung, ist der Unterschied zwischen „Maximalfläche" und „Minimalfläche" geringer.

Sehr tief geht die Veränderung der Scheitelgestalt mit der Blütenbildung. Der Vegetationskegel wölbt sich stärker, und die Achselsprosse, die zu Blüten werden sollen, entwickeln sich viel früher als die in der vegetativen Zone.

Der Vegetationspunkt der Erneuerungssprosse ist massiger als der der Sämlinge, sein Formwechsel im Laufe eines Plastochrons weniger auffallend. Vegetative und generative Zone unterscheiden sich am Scheitel ebenso wie beim einjährigen Sproß.

Die Tunica ist zunächst wohl einschichtig. Mindestens an den Erneuerungssprossen wird sie zweischichtig, mit gelegentlichen periklinalen Teilungen in der zweiten Schicht.

Literatur

BARTELS, F.: Zur Entwicklung der Keimpflanze von Epilobium hirsutum. I. Die im Proembryo ablaufenden Zellteilungen bis zum beginnenden „herzförmigen Embryo". Flora (Jena) **144**, 103—120 (1956). — GIFFORD jr., E. M.: The shoot apex in Angiosperms. Bot. Review **20**, 477—529 (1954). — JENTSCH, R.: Untersuchungen an den Sproßvegetationspunkten einiger Saxifragaceen. Flora (Jena) **144**, 251—289 (1957). — KOWALEWICZ, ROSE: Entwicklungsgeschichtliche Studien an normalen und cruciaten Blüten von Epilobium und Oenothera. Planta (Berl.) **46**, 569—603 (1956). — KRUMBHOLZ, G.: Untersuchungen über die Scheckung der Oenotherenbastarde. Jena. Z. Naturwiss. **62**, 187—260 (1925). — LEBÈGUE, A.: Embryogénie des Oenothéracées. Développement de l'embryon chez l'Epilobium montanum L. Bull. Soc. bot. France **95**, 173—178 (1948). — OLIVER jr., D.: J. Proc. Linnean Soc. **1**, 190—191 (1856), Referat von S-L in Bot. Zeitg **16**, 237 (1858): Bemerkungen über gewisse drüsige Anhänge an den Blättern der Herbstrosetten von Epilobium montanum. — PHILIPSON, W. R.: Studies in the development of the inflorescence. III. The thyrse of Valeriana officinalis L. Ann. of Bot., N. Ser. **11**, 409—416 (1947). — RAUH, W., u. H. REZNIK: Histogenetische Untersuchungen an Blüten- und Infloreszenzachsen. I. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl., 3. Abh. **1951**. — RENNER, O., u. Mitarb.: Zur Entwicklungsgeschichte von Oenothera und Epilobium. II. Mit M. BRAUN, Das Scheitelwachstum des Sprosses von Epilobium. Z. Naturforsch. **7b**, 422—423 (1952). — SCHMIDT, A.: Histologische Studien an phanerogamen Vegetationspunkten. Bot. Archiv **7/8**, 345—404 (1924). — SCHÜEPP, O.: Untersuchungen zur beschreibenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte von Acer Pseudoplatanus L. Jb. wiss. Bot. **70**, 743—804 (1929). — SENGHAS, K.-H.: Histogenetische Studien an Sproßvegetationspunkten dicotyler Pflanzen. I. Bau und Histogenese des Sproß-Scheitel-

meristems einiger Cruciferen. Beitr. Biol. Pflanz. **33**, 85—113 (1956). — TROLL, W., u. W. RAUH: Das Erstarkungswachstum krautiger Dikotylen mit besonderer Berücksichtigung der primären Verdickungsvorgänge. Sitzber. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl., Abh. **1950**. — ZIMMERMANN, W. A.: Histologische Studien am Vegetationspunkt von Hypericum uralum. Jb. wiss. Bot. **68**, 289—344 (1928).

Während der Drucklegung erschienen:

GIFFORD jr., E. M., and R. H. WETMORE: Apical meristems of vegetative shoots and strobili in certain Gymnosperms. Proc. Nat. Acad. Sci. USA **43**, 571 bis 576 (1957). — MICHAELIS, P.: Genetische, entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen zur Plasmavererbung. II. Mitt. Über eine Plastidenmutation und zur Entwicklungsgeschichte von Epilobium. Planta (Berl.) **50**, 60—106 (1957).

Studienrat M. BRAUN, Domgymnasium Freising

Planta, Bd. 50, S. 262—290 (1957)

Aus dem Botanischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen

ÜBER DEN ABBAU VON INDOLDERIVATEN

I. Mitteilung

PHOTOLYSE DURCH ULTRAVIOLETTES LICHT*

Von

GEORG HEINRICH MELCHIOR

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. August 1957)

A. Einleitung

β-Indolylessigsäure wird durch Lichteinwirkung inaktiviert. Während GALSTON 1949, BRAUNER, L. u. M. 1954 und FISCHER 1954 die Photooxydation der β-Indolylessigsäure (IES) im *sichtbaren Licht* mit Riboflavin als Katalysator in vitro untersuchten, haben v. DENFFER u. SCHLITT 1951 auf die unmittelbare Zerstörung des Wuchsstoffes durch *UV-Licht* in vitro hingewiesen. BURKHOLDER u. JOHNSTON haben schon 1937 in Pflanzen, die mit UV-Licht bestrahlt worden waren, eine Verminderung des Wuchsstoffgehaltes gegenüber den unbestrahlten Kontrollen festgestellt (weitere Literatur bei GORDON 1954). Im Zusammenhang mit ihren Untersuchungen über die Zerstörung der β-Indolylpropionsäure durch UV-Licht haben HARE u. KERSTEN 1937 auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die Wirkung des UV-Lichtes auf die Pflanze in der Wirkung auf das pflanzeneigene Tryptophan begründet sein könnte: „a possible action of ultraviolet light upon the tryptophan within the plant may in some part explain the effect of ultraviolet light upon plants".

Die Wirkung ultravioletten Lichtes kann auf verschiedenen Wegen zustande kommen: Sie kann sich einerseits in einer *direkten* Photolyse äußern; andererseits besteht aber auch die Möglichkeit eines *mittelbaren* Einflusses über die Inaktivierung von Enzymen oder Enzymsystemen (BÜNNING 1953).

Zur Prüfung der ersten Möglichkeit wurde das Verhalten verschiedener Indolderivate in wäßriger Lösung unter der Einwirkung von UV-Licht in vitro untersucht. Besondere Beachtung wurde dabei dem Verhalten des Tryptophans gewidmet, das nach WILDMAN, FERRI u. BONNER 1947 (weitere Literatur bei LARSEN 1951 u. GORDON 1954)

* I. Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Justus-Liebig-Universität, Gießen. Herrn Professor Dr. D. v. DENFFER danke ich für die Überlassung des Themas sowie für wertvolle Anregungen und Hinweise bei der Durchführung der Arbeit.

als Ausgangssubstanz verschiedener pflanzeneigener Indolderivate angesehen werden darf.

B. Methode

I. Strahlungsquelle und Bestrahlungsweise

Zur Bestrahlung der Indolderivatlösungen wurde eine Quarz-Analysenlampe (Quarzlampengesellschaft Hanau, Brenner: S 500; Strahlungsfluß für alle UV-Bereiche zusammen 43 Watt) ohne Filter benutzt.

Zur annäherungsweisen Prüfung des wirksamsten Spektralbereiches wurde in einigen Versuchen mit 2,8 mm starkem farblosem Fensterglas gefiltert.

Setzt man als Näherung die Gültigkeit des Bunsen-Roscoeschen Gesetzes voraus, so können durch geeignet gewählte Bestrahlungszeiten annähernd energiegleiche

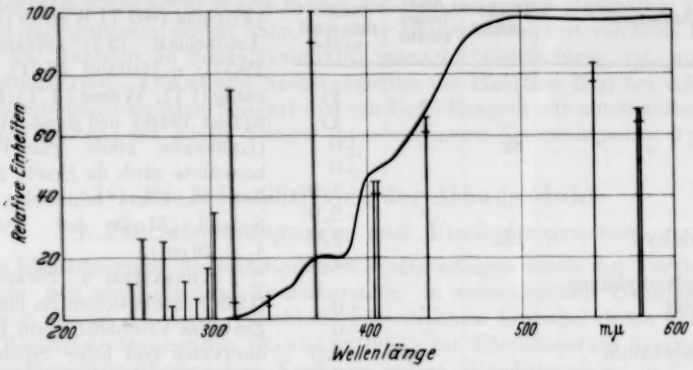


Abb. 1. Vergleich der durch Sonneneinstrahlung bei der Luftmasse M = 1,5 und der Meereshöhe H = 0 m hervorgerufenen Energieverteilung (ausgezogene Linie), in relativen Einheiten bezogen auf das Wellenlängenintervall 1 mμ mit der spektralen Energieverteilung des Brenners S 500 (senkrechte Striche), ebenfalls in relativen Einheiten bei einem Abstand von 1 m von der Lichtquelle (weitere Angaben im Text)

Bestrahlungen erreicht werden. Zur Ermittlung annähernd energieäquivalenter Bestrahlungszeiten wurde die Summe der relativen spektralen Energiewerte gebildet, wobei die spektrale Energie der Wellenlänge 366 mμ gleich hundert Einheiten gesetzt wurde (vgl. Meyer und Seitz 1949). Für den Brenner S 500 resultierten daraus 684 relative Einheiten für die Gesamtenergie (senkrechte Striche der Abb. 1). Nach Filterung durch Fensterglas verbleiben 378 relative Einheiten, da alle Linien unterhalb 300 mμ vollständig und die Linien zwischen 300 und 579 mμ zu einem bestimmten Prozentsatz absorbiert werden (untere Querstriche der Senkrechten zwischen 313 und 579 mμ; Abb. 1). Daraus ergibt sich, daß zur Erzielung einer energieäquivalenten Bestrahlung durch Fensterglas eine um den Faktor 1,8 längere Einwirkungszeit benötigt wird.

Die Bestrahlungsenergie der Sonne (vgl. Meyer und Seitz 1949) in relativen Einheiten wurde durch den Vergleich mit der Strahlungsenergie der Linie 366 mμ des Brenners S 500 berechnet.

Beim Vergleich der Energieverteilung zwischen Sonnenlicht und dem Licht des Brenners S 500 ist zu berücksichtigen, daß die Werte der Bestrahlungsstärke des Brenners im Gegensatz zu den Werten des Sonnenkontinuums, das Integral über die von jeder Linie hervorgerufene Bestrahlungsstärke darstellen.

Die Lösungen der Indolderivate wurden der Lichtquelle in Quarzreagensgläsern mit Schliffstopfen in 25 cm Abstand exponiert (Gesamtexpositionsfläche der fünf nebeneinanderliegenden Quarzröhrchen: 6 × 16 cm). Der Inhalt der

Röhrchen betrug 20 cm³ und ihr Außendurchmesser 16 mm. Um einen Temperatureinfluß während der Bestrahlung weitgehend auszuschließen, wurde mit einem Ventilator Kaltluft über die Gefäße geblasen. Die Temperatur konnte auf diese Weise zwischen 20 und 22° C gehalten werden.

II. Papierchromatographie und Papierelektrophorese

Zur Auftrennung der Extrakte wurde die Papierchromatographie (eindimensional, aufsteigend) angewendet (v. DENFFER, BEHRENS u. FISCHER 1952). Neben deren Standardlösungsmittelgemisch Isopropanol (80 T), Wasser (15 T), Ammoniak (5 T) wurden folgende Gemische zur Trennung herangezogen: Isopropanol (80 T), Wasser (15 T), Ammoniak (2 T) (SPARMANN 1957), n-Butanol (5 T), Eisessig (1 T), Wasser (4 T) (PARTRIDGE 1948) und dest. Wasser (LINSKENS 1955). Als Papier bewährte sich die Sorte 2043 b der Fa. Carl Schleicher und Schüll (Maße der Streifen 4 × 29 cm).

Tabelle 1. *Verhalten von Indolderivaten im elektrischen Feld bei Hochspannung, Mittelwerte aus vier Versuchen*

Substanzen	Abkürzung	Auftragstelle	Wanderungssinn und -weite
Indol	I	—	D
		+	D
Skatol	Sk	—	±0
		+	±0
Oxyindol		—	+1,0
		+	−2,9
β-Indolaldehyd	IA	—	+1,0
		+	−2,4
β-Indolylglyoxylsäure-äthylester		—	±0
		+	±0
β-Indolylacetamid		—	+0,5
		+	−3,2
Tryptophol	Tro	—	+0,4
		+	−3,2
β-Indolylacetonitril	IAN	—	+0,8
		+	−3,2
Gramin		+	−11,3
Tryptamin	TrA	+	−9,1
Tryptophan	Tr	—	+2,0
		+	−6,3
β-Indolcarbonsäure	ICS	—	+5,4
β-Indolylglyoxylsäure	IGyS	—	+9,5
β-Indolylglykolsäure (?)	IGS	—	+4,1
β-Indolylessigsäure	IES	—	+8,4
β-Indolylpropionsäure	IPS	—	+7,5
β-Indolylbuttersäure		—	+6,0
Anthranilsäure	AS	—	+8,8

3000 Volt, 2,5 mAmp./Streifen; Puffer: n/10 Natronlauge-m/10 Dinatriumcitrat nach SÖRENSEN, p_H: 5,8; Verdünnung: 1:96; Laufzeit: 30 Minuten. Zeichenerklärung: Auftragstelle „+" heißt: die Auftragstelle liegt an der Anode, und zwar 8 cm vom Streifenende, Auftragstelle „—" entsprechend; „D": Diffusion; ±0: nicht wandernd = papierelektrophoretisch neutral; +1,0 = 1,0 cm zur Anode wandernd.

SCHNEIDER u. SPARMANN (1955) untersuchten in jüngster Zeit das Verhalten von Indolderivaten bei hoher Spannung (3000 Volt, angelegt an Streifen von 4 × 29 cm). Sie konnten bereits nach kurzer Versuchsdauer (15—30 Minuten) eine exakte Zonenausbildung erzielen. Neben dem von ihnen benutzten Puffer (Essigsäure-Acetat nach WALPOLE, Verdünnung 1:64, p_H 5,8) verwendete ich mit ebenso gutem Erfolg das Gemisch Citrat-Natronlauge nach SÖRENSEN (Verdünnung 1 : 96, p_H 5,8). Das Verhalten der mir zur Verfügung stehenden Indolderivate in diesem Puffer bei 3000 Volt ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Die im Text angegebenen Werte beziehen sich, wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt, auf diesen Puffer und diese Spannung. Auch bei der Papierelektrophorese wurde die Papiersorte 2043b der Fa. Carl Schleicher und Schüll verwendet (Maße der Streifen 4 × 29 cm).

III. Nachweisreaktionen

Nach der papierchromatographischen bzw. papierelektrophoretischen Trennung wurden die Streifen an der Luft getrocknet und mit Perchlorsäure und $FeCl_3$ nach GORDON u. WEBER 1951 (Gordon-Webers-Reagens), Natriumnitrit und Salzsäuredämpfen (MITCHELL u. BRUNSTETTER 1939) oder mit Ehrlichs-Reagens (VLITOS und MEUDT 1953) behandelt. Dabei ist zu beachten, daß β-Indolylglykolsäure, die mit allen übrigen benutzten Reagentien einen intensiv rot-violetten Farbton ergibt, mit Ehrlichs-Reagens nur eine schwache rötliche Färbung zeigt. Bei der späteren Beschreibung der Zonen ist, wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt, die Färbung mit Gordon-Webers-Reagens angegeben. Tryptophan und Tryptamin wurden außerdem mit Ninhydrin angefärbt (CONSDON u. GORDON 1948; BREMNER u. KENTEN 1951). Da β-Indolaldehyd in der Nähe von anderen stark färbbaren Indolderivaten, die ähnliche Rf-Werte haben, mit den genannten Reagentien nur sehr schlecht nachgewiesen werden kann, wurde er hauptsächlich mit van Ecks-Reagens (vER: 5% Benzidin in Eisessig) sichtbar gemacht (Gelbfärbung, vgl. auch SEN u. LEOPOLD 1954). Die untere Nachweisgrenze der Reaktion liegt bei 0,5—1,0 γ. Auch β-Indolylglyoxylsäure reagiert auf van Ecks-Reagens mit einem gelben Farbton. Ihre Färbung ist jedoch weniger intensiv (untere Nachweisgrenze: 5 γ).

IV. Die Indentifizierung der Abbauprodukte

1. Mischchromatogramme und Mischpherogramme

Die Identifizierung der entstandenen Stoffe erfolgte durch den Vergleich der Rf-Werte mit synthetischen Testsubstanzen in verschiedenen Lösungsmitteln. Außerdem wurden die durch verschiedene Reaktionen hervorgerufenen Färbungen sowie Mischchromatogramme (KANDLER 1951) zur Identifizierung herangezogen. Beim papierelektrophoretischen Nachweis gelten Wanderungssinn und -strecke als Kriterien. Am beweiskräftigsten sind diese Kriterien jedoch im Mischpherogramm.

2. Aufnahme von Absorptionsspektren

Zur Aufnahme des UV-Absorptionsspektrums von Tryptamin wurde der aus mehreren Chromatogrammen eluierte Stoff solange chromatographisch und elektrophoretisch gereinigt, bis die angefärbten Probeabschnitte nur noch diese eine Substanz anzeigten. Nach der Eluation aus dem Streifen mit einem Gemisch von Isopropanol (80 T) und Wasser (15 T) wurde das Eluat im Vakuum eingedampft und der Rückstand in Methanol aufgenommen. Die Vergleichsmessung erfolgte gegen filtriertes Methanol-Eluat aus einem gleichgroßen Stück eines indolderivatfreien, doch sonst gleich behandelten Streifens mit Hilfe des Spektralphotometers „M 4 Q" der Fa. Zeiss.

V. Herkunft der Testsubstanzen

Vom Chemischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen wurden folgende Präparate dargestellt: Indol, Oxyindol, β-Indolaldehyd, β-Indolylglyoxylsäureäthylester, β-Indolylacetamid, Tryptophol, β-Indolylacetonitril, Tryptamin (Base), β-Indolcarbonsäure, β-Indolylglyoxylsäure, β-Indolylessigsäure und β-Indolylbrenztraubensäure[1]. Skatol, Gramin und β-Indolylpropionsäure wurden von der Fa. Hoffmann-La Roche, Berlin, und Tryptamin-HCl, Tryptophan, β-Indolylbuttersäure, Isatin und Anthranilsäure von der Fa. Merck, Darmstadt, bezogen.

[1] Herrn Professor Dr. F. KROLLPFEIFFER, dem Direktor des Chemischen Institutes der Justus-Liebig-Universität, sei auch an dieser Stelle für die Darstellung der Indolderivate in seinem Institut herzlich gedankt.

Zur Darstellung der β-Indolylglykolsäure[1] in alkoholischer Lösung wurde ein nach FISCHER 1954 modifiziertes Verfahren benutzt: 5 Quarzröhrchen mit 20 cm³ einer IES-Lösung der Konzentration 10^{-3} g/cm³ wurden 2 Stunden mit dem Brenner S 500 bestrahlt. Der in Äthanol aufgenommene Ätherrückstand der sauren Phase wurde präparativ papierchromatographisch gereinigt (Papier: S & S 2043 b). Nach der Fluorescenz (gelbgrün) eines unbekannten Farbstoffes, der mit β-Indolylglykolsäure papierchromatographisch und papierelektrophoretisch immer zusammen auftrat, wurde die β-Indolylglykolsäure-Zone ausgeschnitten, mit 96%igem Methanol eluiert und das filtrierte Eluat schonend im Vakuum bis auf 1 cm³ eingedampft.

C. Umwandlung des Tryptophans durch UV-Licht

I. Bestrahlung von Tryptophan mit ungefiltertem UV

1. Versuche zur Verminderung der melanoiden Substanzen

Schon 1938 haben BERTHELOT und AMOUREUX Tryptophanlösungen mit ultraviolettem Licht bestrahlt und konnten dabei die Bildung von IES nachweisen. Die Anwesenheit brauner Begleitstoffe (melanoider Substanzen) erschwerte jedoch den Nachweis. BERTHELOT und AMOUREUX 1938 erhielten die schwächste Färbung der Lösungen, wenn sie ihre Bestrahlungsgefäße bis zum Rande füllten und mit Watte verschlossen. Da anzunehmen war, daß die braune Eigenfarbe der melanoiden Substanzen im Chromatogramm stören würde, wurden für die vorliegenden Untersuchungen die günstigsten Bedingungen ermittelt, um ein möglichst farbloses Bestrahlungsgemisch zu erhalten. Dazu wurden Tryptophanlösungen (5×10^{-3} mol.) in verschieden hoch gefüllten Gefäßen zwei Stunden mit ungefiltertem UV-Licht bestrahlt. Neben dem Füllungsgrad wurde auch der Verschluß der Bestrahlungsgefäße variiert. Im einzelnen wurden folgende Bestrahlungsanordnungen geprüft:

1. in flachen Porzellanschalen unter Luftzutritt,
2. in Quarzreagensgläsern, halbgefüllt und mit Wattestopfen verschlossen,
3. ebenso, doch mit Schliffstopfen verschlossen,
4. ebenso, doch vollständig gefüllt und mit Wattestopfen verschlossen,
5. ebenso, doch mit Schliffstopfen verschlossen,
6. in 500 cm³ Quarzkolben vollständig gefüllt mit Gummistopfen verschlossen.

Während im Versuch 1 schon nach 10—15 Minuten eine starke Bräunung auftritt, war diese im Versuch 2 und 3 nach $1^1/_2$-Stunden Bestrahlungszeit erst schwach und bei Versuch 4 bis 6, in Übereinstimmung mit den Befunden von BERTHELOT und AMOUREUX 1938, nach derselben Zeit nur als leichte Gelbfärbung wahrnehmbar. Bei den folgenden Versuchen wurde daher, wenn nicht ausdrücklich anders erwähnt, in vollständig gefüllten, mit Quarzstopfen verschlossenen Quarzröhrchen bestrahlt.

[1] Nach Abschluß des Manuskriptes der vorliegenden Arbeit ist es GREENBERG, GALSTON, SHAW und ARMSTRONG 1957 gelungen, das Kaliumsalz der β-Indolylglykolsäure synthetisch darzustellen. Sie teilen mit, daß die freie Säure in dem von FISCHER 1954 verwendeten ammoniakalischen Lösungsmittel unbeständig ist. Da Reste der seinerzeit von SCHAEG (s. FISCHER 1954) dargestellten Säure keine Farbreaktion mehr ergaben, konnte ein Nachweis der β-Indolylglykolsäure nur durch Vergleich mit dem oben beschriebenen Präparat geführt werden. Die Ergebnisse der genannten Autoren machen es allerdings wahrscheinlich, daß es sich bei der von FISCHER isolierten Substanz („F") nicht um die β-Indolylglykolsäure gehandelt haben kann. Das gilt auch für die im vorliegenden Manuskript mit der β-Indolylglykolsäure identifizierten Zone, die aus diesem Grunde nachträglich mit einem Fragezeichen versehen worden ist.

2. Versuche zur Identifizierung der entstandenen Substanzen

In den ersten Versuchen sollte festgestellt werden, welche Abbauprodukte bei der Photolyse des Tryptophans auftreten und in welcher Reihenfolge sie erscheinen, um auf diese Weise Anhaltspunkte über den Abbauweg zu gewinnen. Die Analysen wurden nach 30, 60 und 120 Minuten Bestrahlung vorgenommen.

Die bestrahlte Tryptophanlösung wurde zunächst bei p_H 8 (durch Zugabe von 8%igem Natriumbicarbonat), dann bei p_H 3 (durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure) je 3× mit 40 cm³ peroxydfreiem Äther extrahiert, die beiden Fraktionen unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft und der Rückstand 2× in je 0,5 cm³ Äthanol aufgenommen. Diese Lösung wurde zur Papierchromatographie und zur Papierelektrophorese verwendet.

a) Photolyseprodukte nach 30 Minuten Bestrahlungszeit. Nach 30 Minuten Bestrahlungsdauer konnte mit Gordon-Webers-Reagens in der alkalischen Ätherphase eine grünviolette Zone mit dem R_f-Wert 0,79 festgestellt werden. Mit Natriumnitrit und Salzsäure ergab dieselbe Zone eine gelbe und mit Ehrlichs-Reagens eine grün-blaue Färbung. Die Ninhydrin-Reaktion (Bremner u. Kenten 1951) ergab einen gelbbraunen Farbton. Der positive Charakter dieser Reaktion deutet auf eine Aminogruppe hin. Da das Photolyseprodukt papierelektrophoretisch zur Kathode wanderte (8,9—9,3 cm in 30 Minuten), der Stoff also basische Eigenschaften besaß, mußte es sich um ein Amin handeln. Bei der Entstehung eines solchen aus Tryptophan kam in erster Linie das Tryptamin in Frage. Vergleiche des Photolyseproduktes im Mischchromatogramm und Mischpherogramm mit synthetischem Tryptamin brachten die Bestätigung dieser Annahme. Auch die angegebenen Farbreaktionen waren identisch (vgl. Tab. 2). Als weitere Nachweise wurden eine Fällung mit Phosphor-Wolframsäure (Guggenheim 1951) und die Vanillin-Salzsäure-Reaktion (Bauer 1950) durchgeführt.

Letztere ergab eine Blau-Violett-Färbung, die sich bis zum Eintrocknen nicht mehr änderte; sie verschwand jedoch bei Ammoniak-Zugabe und erschien wieder beim Ansäuern.

Außerdem zeigten die UV-Absorptionsspektren gute Übereinstimmung (λ Max. 220 mμ; 280 mμ; λ Min. 250 mμ).

Ein weiteres Photolyseprodukt, das nur in sehr geringer Menge in der alkalischen Phase des Ätherextraktes vorhanden war, wird im folgenden Abschnitt behandelt.

Im sauren Ätherextrakt konnte mit Gordon-Webers-Reagens eine schwache rote Zone nachgewiesen werden (R_f-Wert 0,42). Ihre Identifizierung war jedoch erst bei der Analyse 60 Minuten lang bestrahlter Tryptophanlösungen möglich, da erst dann die zur Identifizierung benötigte Menge vorhanden war.

b) Photolyse-Produkte nach 60 Minuten Bestrahlungszeit. In der alkalischen Ätherphase waren neben Tryptamin noch zwei weitere Stoffe

in gut nachweisbarer Menge vorhanden. Einer davon (R_f-Wert 0,91) trat neben der Tryptamin-Zone schon nach 30 Minuten Bestrahlungsdauer als sehr schwache rote Zone auf. Nach 60 Minuten Bestrahlungsdauer wurde sie sehr viel deutlicher sichtbar und erschien alsdann gelb mit rotem Rand. In 30 Minuten wanderte sie 3,2 cm zur Kathode.

Papierchromatographische und papierelektrophoretische Vergleiche ergaben Übereinstimmung mit synthetischem Tryptophol.

Das 3. Photolyse-Produkt der alkalischen Ätherphase hat einen niedrigeren R_f-Wert (0,83) als das Tryptophol. Es erscheint nach Behandlung mit Gordon-Webers-Reagens als kräftige rot-violette Zone, die sich papierelektrophoretisch neutral verhält. Benzidin- und Ninhydrin-Reaktion sind negativ. Die Identifizierung dieser Substanz ist bisher nicht gelungen (Zone „Y").

Ein 4. Photolyseprodukt der alkalischen Ätherphase (R_f-Wert 0,89) konnte nur mit Van Ecks-Reagens sichtbar gemacht werden. Die Identifizierung dieser Substanz gelang in 120 Minuten lang bestrahlten Tryptophan-Lösungen.

Die saure Ätherphase enthielt eine mit Gordon-Webers-Reagens rot-violett färbbare Zone, die schon nach 30 Minuten Bestrahlungsdauer in geringer Menge nachgewiesen werden konnte (s. S. 267). Diese Substanz reagierte auch auf Ehrlichs-Reagens und Natriumnitrit + Salzsäuredämpfe mit einer Rotfärbung. Neben der Extrahierbarkeit bei niedrigem p_H deutete auch das papierelektrophoretische Verhalten auf eine Säure. Sie wanderte in 30 Minuten 8,4 cm zur Kathode. In Mischchromatogrammen, Mischpherogrammen und im Verhalten gegen die oben genannten Reagentien stimmte das Photolyseprodukt mit synthetischer IES überein (vgl. Tabelle 2).

c) **Photolyse-Produkte nach 120 Minuten Bestrahlungszeit.** Nach 120 Minuten Bestrahlungszeit konnten in der alkalischen Phase neben Tryptamin, Tryptophol und „Y" vier weitere Stoffe festgestellt werden. Davon konnten auf Grund des papierchromatographischen und papierelektrophoretischen Verhaltens und durch Farbreaktionen Indol (R_f-Wert: 0,99), Skatol (R_f-Wert: 0,97) und β-Indolaldehyd [R_f-Wert: 0,89; schwach schon nach 60 Minuten erkennbar (s. S. 268)] identifiziert werden (vgl. Tabelle 2 und v. DENFFER und FISCHER 1952, FISCHER 1954 und BEHRENS und FISCHER 1954). Die Identifizierung der 4. Zone, die mit „Z" bezeichnet wurde, ist bisher nicht gelungen. Sie ergibt mit Gordon-Webers-Reagens einen rotbraunen Farbton. Mit van Ecks-Reagens und Ninhydrin ergibt diese Substanz keine Farbreaktion. Der R_f-Wert der Zone „Z" in Isopropanol, Ammoniak und Wasser beträgt ,099. Bei 3000 Volt wandert sie in 30 Minuten 0,8 cm zur Kathode.

Der saure Extrakt enthielt neben IES zwei weitere Substanzen. Eine von ihnen ergab mit Gordon-Webers-Reagens eine rot-violette Farbzone

(R_f-Wert 0,52) und wanderte im elektrischen Feld halb so weit wie IES. Ein Vergleich mit β-Indolylglykolsäure (?) (s. S. 266) zeigte im Mischchromatogramm und -pherogramm Übereinstimmung. Die andere Substanz (R_f-Wert: 0,26), im R_f-Wert tiefer liegend als IES (R_f-Wert: 0,42), war nur in sehr geringer Menge vorhanden. Sie ergab mit Gordon-Webers-Reagens eine blaß-ziegelrote, mit Ehrlichs-Reagens jedoch rot-violette Färbung. Sie konnte als β-Indolcarbonsäure identifiziert werden (s. Tabelle 2).

Tabelle 2. *Nachweisreaktionen zur Identifizierung der nach 120 Minuten Tryptophan-Photolyse gefundenen Substanzen.* (Abkürzungen s. Tabelle 1)

	Gefundene Substanzen							
	ICS	IES	IGS(?)	TrA	IA	Tro	Sk	I
Nachweis durch:								
A. Farbreaktionen								
1. Gordon-Webers-Reagens	+	+	+	+	+	+	+	+
2. $NaNO_2$ + HCl	+	+	+	+	+	+	+	+
3. Ehrlichs-Reagens	+	+	+	+	+	+	+	+
4. Ninhydrin				+				
5. Vanillin + HCl				+				
6. van Ecks-Reagens					+			
7. Alkoh. Pyrrollsg.					+			
B. Mischchrom. in:								
Isopr., Ammoniak, Wasser	+	+	+	+	+	+	+	+
2. Dest. Wasser	+	+	+		+			
3. 70% Äthanol		+						
4. Butanol, Eisessig, Wasser				+				
C. Mischpherogr. in:								
1. Essigsäure-Acetat	+	+	+	+	+	+	+	D
2. Zitrat-Natronlauge	+	+	+	+	+	+	+	D
D. UV-Absorptionsspektrum				+				
E. Fällung mit Phosphor-Wolframsäure				+				
F. Geruch							+	

In Tabelle 2 sind der Übersichtlichkeit halber nochmals sämtliche zur Identifizierung der verschiedenen Substanzen herangezogenen Methoden zusammengefaßt.

3. Quantitative Bestimmung des Tryptamins und der β-Indolylessigsäure

Nachdem zunächst nur die qualitative Seite des Tryptophan-Abbaues untersucht worden war, erschien es wünschenswert, die quantitative Seite der Photolyse zu verfolgen. Da sich IES und Tryptamin gut im elektrischen Feld von den übrigen Indolderivaten abtrennen ließen, konnten sie quantitativ ausgewertet werden.

Je 20 cm³ Tryptophanlösung (5×10^{-3} mol.) wurden zu diesem Zweck wie üblich in verschlossenen Quarzreagensgläsern ungefiltertem UV-Licht ausgesetzt. Die quantitative Bestimmung des Tryptamins

und der IES erfolgte nach 30, 60, 90 und 120 bzw. 60, 90 und 120 Minuten auf Grund eines Vergleichs mit Eichkurven.

Zur Herstellung der Eichkurven wurden auf getrennten Papierstreifen steigende Substanzmengen (1 bis 8 γ) aufgetragen, an die Streifen 22 Minuten lang 3000 Volt angelegt und die Pherogramme 30 Minuten bei 50° C getrocknet. Anschließend wurden sie mit Gordon-Webers-Reagens besprüht und die Farbzonen bei 50° C 30 Minuten im Dunkeln entwickelt. Die Auswertung der Streifen erfolgte sofort anschließend im Auswertgerät von GRASSMANN und HANNIG, dessen Empfindlichkeit durch die Verwendung eines Lichtmarkengalvanometers (HLM 4 der Fa. Hartmann und Braun, Frankfurt/M.) erhöht wurde (SCHNEIDER 1957). Die Lichtdurchlässigkeit in % wurde in Abhängigkeit von der Entfernung von der Startlinie auf Millimeterpapier aufgetragen und die Kurve planimetriert. Zur Herstellung der Eichkurve wurden die gefundenen Planimeterwerte als Funktion der gemessenen Substanzmenge aufgetragen (Abb. 2). Jedem Eichwert liegt die Messung von 4—5 Streifen zugrunde.

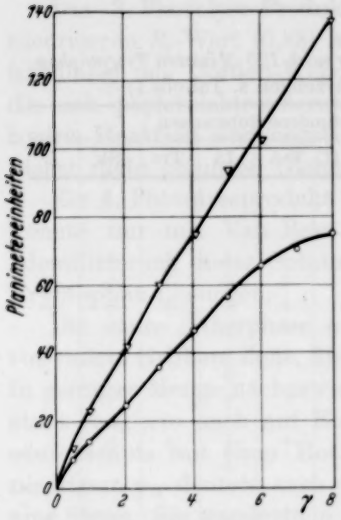


Abb. 2. Eichkurven zur quantitativen Bestimmung des Tryptamins (▽—▽) und der IES (○—○). Die mittlere Abweichung im Meßbereich zwischen 0,5 und 5,0 γ betrug für Tryptamin 1,1—2,1 und für die IES 1,5—2,0 Planimetereinheiten

Zur Bestimmung des Tryptamins wurden 0,05 bis 0,1 cm³ der bestrahlten Tryptophanlösung mit Blutzuckerpipetten auf Streifen aufgetragen und das Tryptamin elektrophoretisch abgetrennt.

Zur IES-Bestimmung wurden 10 cm³ der bestrahlten Lösung bei p_H 3 mit Äther extrahiert, der Äther abgedampft, der Ätherrückstand 2× in je 0,5 cm³ Äthanol aufgenommen und je nach der Bestrahlungsdauer zwischen 0,05 und 0,08 cm³ Extrakt aufgetragen und der Hochspannungselektrophorese unterworfen (Zeit: 22 Minuten).

An Hand der Planimeterwerte konnte die Tryptamin- oder IES-Menge zum Zeitpunkt der Bestrahlungsunterbrechung aus der Eichkurve entnommen werden.

In Abb. 3 ist die in 1 cm³ bestrahlter Tryptophanlösung gefundene IES- bzw. Tryptaminmenge als Funktion der Bestrahlungsdauer dargestellt. Jeder Punkt der Kurve beruht für Tryptamin auf vier und für IES auf fünf Meßwerten.

Da die Entstehung des Tryptamins während der ersten 120 Minuten annähernd linear mit der Bestrahlungszeit zunimmt, scheint die Annahme berechtigt, daß es sich bei dieser Substanz um eines der in der Abbaukette am Anfang stehenden Produkte handelt. Im Gegensatz dazu zeigt die Entstehungskurve der IES (zumindest bis 120 Minuten Bestrahlungszeit) einen nichtlinearen Anstieg. Reaktionskinetischen Betrachtungen, denen exponentielle Abbau- und Entstehungskurven zugrunde gelegt sind, lassen vermuten, daß ein solcher nichtlinearer

Anstieg auf ein Produkt hinweist, das frühestens an 3. Stelle beim Abbau in gut nachweisbarer Menge auftritt (persönl. Mitt. von Herrn Dr. P. Bartels).

Die ersten quantitativen Angaben über die aus bestrahlten Tryptophanlösungen gebildete IES-Menge stammen von Berthelot und Amoureux 1938. Sie geben die in einer Tryptophanlösung von $0{,}1 \times 10^{-3}$ g/cm³ nach 90 Minuten Bestrahlungszeit vorhandene IES-Menge mit 24 γ je cm³ der bestrahlten Lösung an.

Nach eigenen Erfahrungen (Abb. 3) betrug die bei der Bestrahlung einer 10^{-3} g/cm³ Tryptophanlösung gefundene IES-Menge nach 120 Minuten Einwirkungsdauer des Brenners S 500 nur 4 γ je cm³, d. h. ein Sechzigstel der von Berthelot und Amoureux 1938 nachgewiesenen Menge. Die Ursache für diese Differenz kann folgende sein: Zur Bestimmung der IES photometrierte Berthelot 1914 den von Kaliumnitrit mit Salzsäure und den Indolderivaten der sauren Ätherphase gebildeten, in Amylalkohol aufgenommenen Farbstoff. Durch meine Untersuchungen ist aber erwiesen, daß bei der Tryptophanphotolyse auch β-Indolylglykolsäure entsteht, die in die saure Ätherphase geht. Nach der Färbung mit Natriumnitrit und Salzsäure auf Chromatographiestreifen zu urteilen, absorbiert dieser Farbstoff ebenfalls im Gebiet zwischen 560 und 530 mμ (vgl. auch Klingmüller 1955) und dürfte deshalb einen Fehler hervorrufen, der ohne Auftrennung der sauren Fraktion nicht zu vermeiden ist.

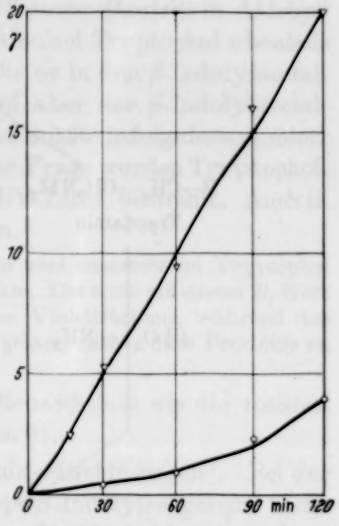


Abb. 3. Tryptamin (▽——▽) und IES-Menge (○——○) in 1 cm³ bestrahlter Tryptophanlösung als Funktion der Bestrahlungsdauer (Ausgangskonzentration der Tryptophanlösung 5×10^{-3} mol.)

4. Versuche zur Analyse des Abbauweges

Über die enzymatische Umwandlung des Tryptophans zur IES wurde von verschiedenen Autoren berichtet (zusammenfassende Darstellung bei Larsen 1951, Gordon 1954 und Reinert 1954). Der wahrscheinliche Abbauweg (Abb. 4) wird von Gordon 1954 folgendermaßen charakterisiert: „IAc" (β-Indolylacetaldehyd) „arises from tryptophan as a primary precursor, via either IPyA" (β-Indolylbrenztraubensäure) „or tryptamine" (vgl. auch Gordon 1955), „the aldehyde being then oxydized to IAA" (β-Indolylessigsäure).

In einem auf theoretischen Erwägungen basierenden Abbauschema faßten auch Linser, Mayr und Maschek 1954 die der β-Indolylessigsäure nahestehenden Indolderivate einschließlich der Abbauprodukte der β-Indolylessigsäure zusammen.

Um den photolytischen Abbauweg des Tryptophans mit dem Weg des enzymatischen Abbaues zu vergleichen, wurden die im Abbauschema

LARSENS 1951 (Abb. 4) angegebenen und bei den eigenen Versuchen zur Photolyse des Tryptophans identifizierten Indolderivate bestrahlt und ihre Abbauprodukte analysiert.

a) Bestrahlung von Tryptamin. Das erste nachweisbare Photolyseprodukt des Tryptophans ist das Tryptamin. Wenn, wie es SKOOG 1937,

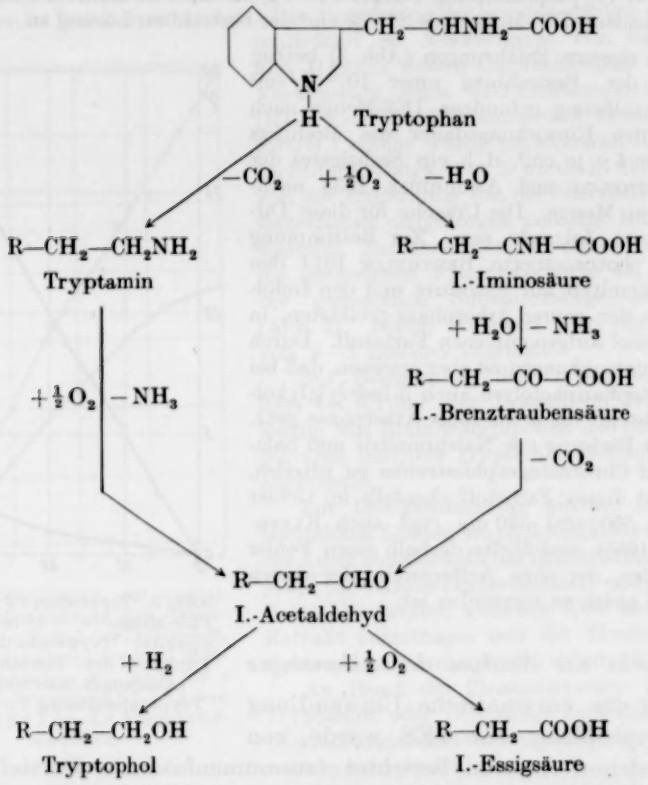


Abb. 4. Wahrscheinlicher Abbauweg des Tryptophans nach LARSEN (1951)

LARSEN 1944 und GORDON und SANCHEZ-NIEVA 1949 für den fermentativen Abbau des Tryptophans annehmen, die IES beim photolytischen Abbau des Tryptophans ebenfalls über Tryptamin entsteht, so muß auch die Bestrahlung von Tryptamin zur Bildung von IES führen.

Um diese Frage zu prüfen, wurden 20 cm³ wäßriger Tryptaminlösung (5×10^{-4} g/cm³) 2 Stunden mit dem Brenner S 500 bestrahlt. Nachdem die Lösung unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand in 1 cm³ Methanol aufgenommen worden war, wurden 0,4 cm³ des Extraktes chromatographiert.

Wider Erwarten fand sich im Chromatogramm keine IES. Statt dessen waren neben dem unzersetzten Tryptamin geringe Mengen Tryptophol und eine weitere Substanz „T" vorhanden.

„T" reagierte außer mit Gordon-Webers-Reagens auch mit Ninhydrin und stimmt im Mischchromatogramm (Isopropanol, Wasser, Ammoniak) mit Tryptophan überein. Die Ausbeute an „T" ist bei Luftzutritt größer als bei der üblichen Bestrahlungsweise unter Luftabschluß. Ob es sich tatsächlich um Tryptophan handelt, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

b) Bestrahlung von Tryptophol. Auch Tryptophol wurde als Photolyseprodukt des Tryptophans nachgewiesen. Es entsteht, wie der vorige Versuch zeigte, ebenfalls aus bestrahltem Tryptamin. Nach BACHER 1929 können Alkohole unter UV-Einwirkung und Sauerstoffzutritt in Aldehyd und Carbonsäuren übergehen. Wenn der Alkohol Tryptophol ebenfalls auf diese Weise photolysiert würde, so müßte er in den β-Indolylacetaldehyd übergehen. Nach LARSEN 1944 wird aber der β-Indolylacetaldehyd bereits durch Sonnenlicht zerstört und müßte infolgedessen sofort zur IES oxydiert werden. Zur Prüfung dieser Frage wurden Tryptopholllösungen (5×10^{-4} g/cm^3) 2 Stunden mit UV-Licht bestrahlt. Auch in diesem Falle ließ sich keine IES nachweisen.

Die Chromatogramme zeigten aber neben sehr viel unzersetztem Tryptophol in geringerer Menge zwei andere Zersetzungsprodukte. Das erste mit einem R_f-Wert von 0,83 ergab mit Gordon-Webers-Reagens eine Violettfärbung, während das zweite (R_f-Wert 0,86) orangefarben wurde. Es gelang nicht, diese Produkte zu identifizieren.

Der Alkohol Tryptophol ist demnach offensichtlich wie die meisten Alkohole relativ photoresistent (BACHER 1929).

c) Bestrahlung von Tryptophan-Tryptamin-Mischlösungen[1]. Bei der Bestrahlung reinen Tryptamins konnte keine β-Indolylessigsäure nachgewiesen werden (s. S. 272). Es könnte aber die Möglichkeit bestehen, daß IES auf dem Wege über Tryptamin in Gegenwart von Tryptophan oder eines Tryptophanabbauproduktes entsteht. Ein Zusatz von Tryptamin zur Tryptophanlösung müßte dann die IES-Ausbeute erhöhen. Zur Tryptophanlösung wurde deshalb im folgenden Versuch 1 mg Tryptamin zugesetzt und die IES-Ausbeute nach 2 Stunden Bestrahlungsdauer mit einer Kontrolle ohne Tryptaminzusatz verglichen. Es zeigte sich, daß die IES-Menge der Proben mit Tryptaminzusatz um 32% höher lag, als bei den Kontrollen (Mittelwert aus drei Versuchen). *Tryptaminzusatz* erhöht *demnach die IES*-Ausbeute, was entweder auf eine gesteigerte IES-Bildung oder eine Hemmung der Photolyse der IES zurückgeführt werden kann. Die zweite Möglichkeit konnte ausgeschlossen werden, da auch die Menge des aus der β-Indolylessigsäure entstandenen β-Indolaldehyds höher lag als bei den Kontrollen (visueller Vergleich der mit van Ecks-Reagens sichtbar gemachten β-Indolaldehyd-Zone). Es besteht also die Möglichkeit, daß Tryptamin nur in Gegenwart von Tryptophan zur IES abgebaut wird, oder Tryptamin

[1] Herrn Dr. S. A. GORDON sei für die freundliche Anregung zu diesem und dem folgenden Versuch herzlich gedankt.

beschleunigt den Abbau des Tryptophans auf anderem Wege. Eine Entscheidung dieser Frage konnte nicht getroffen werden.

d) Bestrahlung von Tryptophan-Tryptophol-Mischlösungen. Reines Tryptophol ergab bei Bestrahlung keine IES. Ein Zusatz von Tryptophol zur Tryptophanlösung könnte aber, wie im vorigen Versuch der Tryptamin-Zusatz, die IES-Ausbeute erhöhen, wenn man Tryptophol als mögliche Vorstufe des IES annimmt. Es wurde daher der Tryptophan-Standardlösung 1 mg Tryptophol zugesetzt und die IES-Ausbeute mit einer Kontrolle (ohne Tryptophol-Zusatz) verglichen. Es zeigte sich, daß die IES-Menge um 30% niedriger lag, als in der Kontrolle (Mittelwert aus drei Versuchen). Demnach hemmt Tryptophol die IES-Bildung, oder sein Zusatz erhöht die Geschwindigkeit der IES-Zerstörung. Auch in diesem Fall konnte eine Wirkung auf die IES-Photolyse ausgeschlossen werden; denn die vorhandene Menge an β-Indolaldehyd war geringer als in der Kontrolle (visueller Vergleich der mit van Ecks-Reagens sichtbar gemachten β-Indolaldehyd-Zonen). Tryptophol dürfte auf Grund dieses Versuches als IES-Vorstufe ausscheiden.

e) Bestrahlung der β-Indolylbrenztraubensäure. Von den auf der Seite 271 genannten Autoren wurde auch die β-Indolylbrenztraubensäure als Intermediärprodukt des fermentativen Abbaues des Tryptophans angenommen. Beim photolytischen Abbau des Tryptophans gelang ihr Nachweis nicht. Da sie schon in wäßriger Lösung spontane Oxydation erleidet, die sich durch Orangefärbung anzeigt (WILDMANN, FERRI und BONNER 1947), und beim Chromatographieren in ammoniakalischem Lösungsmittel zerstört wird (BENTLEY, FARRAR, HOUSLEY, SMITH und TAYLOR 1956), durfte auch kaum damit gerechnet werden. Das negative Ergebnis dürfte die Möglichkeit ihrer Entstehung als Intermediärprodukt der Tryptophan-Photolyse jedoch nicht ausschließen.

Tabelle 3. *Oxydationsprodukte einer β-Indolylbrenztraubensäure-Dunkelprobe nach 2 Stunden bei Zimmertemperatur und Luftzutritt*

R_f-Wert	Farbe mit Gordon-Webers Reagens	Farbe mit van Ecks-Reagens	Bezeichnung
0,01	rotbraun	—	?
0,12	orange	—	?
0,18+	rot-violett	gelb	?
0,33	blaß-rot	?	?
0,36	orange-rot	—	IES
0,37	?	gelb	IGyS ?
0,41+	rot-violett	—	?
0,55+	rot-violett	—	IGS
0,88+	hellbraun	gelb	IA

Die Produkte einer sofort nach dem Lösen chromatographierten Probe sind durch „+" gekennzeichnet.

Zur Papier-Chromatographie und Papierelektrophorese wurden 10 mg der leicht grau-gelblich gefärbten Substanz in 6,3 cm³ 96%igem Alkohol gelöst und mit dest. Wasser auf 20 cm³ aufgefüllt (p_H der Lösung: 4,5). Davon wurden 0,05, 0,1 und 0,2 cm³ sofort chromatographiert.

Wie Chromatogramme zeigten, war auch das verwendete β-Indolylbrenztraubensäurepräparat unter diesen Bedingungen offensichtlich leicht zersetzlich (vgl. BENTLEY, FARRAR, HOUSLEY, SMITH und TAYLOR 1956). Es ergab mit Gordon-Webers-Reagens 4 Zonen, von denen 2 auch mit van Ecks-Reagens Gelbfärbung ergaben (Tab. 3).

Nach 30 Minuten Hochspannungselektrophorese ergaben sich ebenfalls mehrere Zonen, von denen die IES-Zone und eine weitere, welche während dieser Zeit 11,4 cm zur Anode wandert, am kräftigsten waren. Die letztere Zone ergibt mit Gordon-Webers-Reagens eine rotviolette und mit van Ecks-Reagens eine gelbe Färbung. Weiterhin konnten β-Indolylglykolsäure (?) und β-Indolaldehyd nachgewiesen werden. Keine der Zonen konnte papierchromatographisch oder papierelektrophoretisch einwandfrei als β-Indolylbrenztraubensäure identifiziert werden.

Zur Untersuchung des photolytischen Abbaues meines Präparates im UV-Licht wurden Lösungen der Konzentration 5×10^{-4} g/cm³ wie üblich bestrahlt (s. S. 266) und mit einer während der gleichen Zeit im Dunkeln gehaltenen Kontrolle verglichen. Die ursprünglich nur ganz schwach gelbliche Kontrollösung hatte sich während dieser Zeit deutlich orange-rot verfärbt. Das chromatographierte Gemisch ergab bei 0,2 cm³ Auftragsmenge die in Tab. 3 zusammengefaßten Produkte und Farbreaktionen.

Im Gegensatz zu der sofort nach dem Lösen chromatographierten Probe war hier jedoch im Chromatogramm die IES-Zone deutlich ausgeprägt.

In der mit UV-Licht bestrahlten Lösung konnte neben einer Erhöhung der Menge der in Tab. 3 angeführten Oxydationsprodukte auch Skatol als Abbauprodukt nachgewiesen werden (Geruch). Das mir zur Verfügung stehende β-Indolylbrenztraubensäure-Präparat dürfte demnach durch UV-Licht verstärkt zur IES und anderen Oxydationsprodukten abgebaut werden.

f) Bestrahlung der β-Indolylessigsäure und einiger ihrer Photolyseprodukte sowie des β-Indolylacetonitrils. Über die Photolyse der β-Indolylessigsäure im UV-Licht berichteten v. Denffer und Schlitt 1951, Ferri 1951, Brauner 1953 und Fischer 1954. Fischer fand als Abbauprodukte β-Indolylglykolsäure (?), β-Indolylglyoxylsäure, β-Indolaldehyd, Skatol, Indol und eine Zone „I" (vgl. auch Behrens und Fischer 1954).

Brauner, L. und M. 1954 nehmen bei der riboflavin-katalysierten IES-Photolyse als Stufen die IES-β-Indolylglykolsäure und β-Indolylglyoxylsäure an. In der auf S. 271 erwähnten theoretischen Diskussion des Abbauweges des Tryptophans nannten Linser, Mayr und Maschek 1954 auch die β-Indolcarbonsäure als mögliches Abbauprodukt der IES.

Zur Sicherung des von Fischer 1954 angegebenen Abbauweges wurden die folgenden Indolderivate mit dem Brenner S 500 bestrahlt: β-Indolylessigsäure, β-Indolylglyoxylsäure, β-Indolaldehyd, β-Indolcarbonsäure, Indol und Skatol. Die Konzentration betrug in allen Fällen 5×10^{-4} g/cm³. Für die nach dem auf S. 266 angegebenen Verfahren dargestellte β-Indolylglykolsäure (?) läßt sich eine genaue Konzentration nicht angeben, es wurde 1 cm³ der alkoholischen Lösung mit Wasser auf 20 cm³ aufgefüllt.

Ferner wurde das im Weißkohl festgestellte β-Indolylacetonitril (Jones, Henbest, Smith und Bentley 1952) bestrahlt.

α) Nachweis der β-Indolcarbonsäure in photolysierten Lösungen der IES, des β-Indolylacetonitrils und verschiedener IES-Abkömmlinge. Wie Tabelle 4 zeigt, konnte den von Fischer 1954 und Behrens

und FISCHER 1954 identifizierten Photolyseprodukten der IES die bisher von keinem dieser Autoren nachgewiesene β-Indolcarbonsäure hinzugefügt werden. Der eindeutige Nachweis der β-Indolcarbonsäure in bestrahlten Lösungen von β-Indolylglykolsäure (?), β-Indolylglyoxylsäure und β-Indolaldehyd sichert ihr Auftreten bei der Photolyse der IES und damit auch im Tryptophanabbau durch UV-Licht. Damit erfährt die auf theoretischen Erwägungen basierende Annahme von

Tabelle 4. *Photolyseprodukte von verschiedenen Indolderivaten nach zweistündiger UV-Einwirkung*

Bestrahlte Indolderivate	IES	IGS(?)	IGyS	IA	ICS	I	SK	IAN
A. Nach der Bestrahlung gefundene, mit Gordon-Webers-Reagens färbbare Produkte								
IGS(?)	+							
IGyS	+	×						
IA	+	+	+					+
ICS	×	+	+	+				+
I	+	+	+	+	×			×
SK	+							×
B. Nach der Bestrahlung gefundene, mit Ehrlichs-Reagens färbbare Produkte								
0,31 „1" = AS) (gelb)	+	+	+	+	+			+
0,58 („n") (gelb)						+	+	
0,82 („m") (orange)				+				+

FISCHERS Zone „I" wurde nicht in die Tabelle aufgenommen, um Verwechslungen mit Indol (I) zu vermeiden („x" bedeutet: Färbungen mit Gordon-Webers-Reagens auch bei Auftragsmengen bis 0,5 cm³ nur sehr schwach; „+" bedeutet: Färbung bei 0,1 cm³ Auftragsmenge deutlich).

LINSER, MAYR und MASCHEK 1954, daß β-Indolcarbonsäure im Tryptophanabbau auftreten kann, ihre experimentelle Bestätigung.

Interessant ist das Ergebnis der Bestrahlung des β-Indolylacetonitrils (Tabelle 4): Dieses scheint nicht in IES überzugehen, sondern sofort über β-Indolaldehyd und β-Indolcarbonsäure abgebaut zu werden, ein Weg, den BACHER schon 1929 allgemein für Nitrile angibt.

β) Nachweis der Anthranilsäure. In einer während der Niederschrift dieser Arbeit erschienenen Kurzmitteilung berichten MEYER und POHL 1956, daß β-Indolcarbonsäure durch Lichteinwirkung mit Riboflavin als Katalysator zur Anthranilsäure photolysiert wird. Diese zerfällt nach Angaben derselben Autoren im ultravioletten Licht weiter in Ameisensäure und Glykokoll. Nun konnte in der vorliegenden Arbeit in allen bestrahlten Lösungen der IES-Abkömmlinge und des β-Indolylacetonitrils (Ausnahmen: Indol und Skatol) durch die Färbung mit

Ehrlichs-Reagens eine gelbe Zone (R_f-Wert: 0,31) festgestellt werden („1" der Tabelle 4). Das papierelektrophoretische Verhalten zeigt eine Säure an, die in 30 Minuten 8,6 bis 9,0 cm zur Anode wandert. Da nach Manning und Galston 1955 die sofortige Gelbfärbung mit Ehrlichs-Reagens für solche Substanzen charakteristisch ist, die eine aromatisch gebundene Aminogruppe besitzen (z. B.: o-Aminoacetophenon), wurde das Verhalten von Anthranilsäure mit „1" verglichen. Es zeigte in der Färbung, im papierchromatographischen und papierelektrophoretischen Verhalten Übereinstimmung. „1" dürfte also mit Anthranilsäure identisch sein.

γ) Unbekannte Photolyseprodukte aus verschiedenen Indolderivaten. Weitere unbekannte Abbauprodukte (s. Tabelle 4) entstehen aus β-Indolylacetonitril, β-Indolaldehyd, Indol und Skatol. Auffällig ist, daß weder bei der Bestrahlung von Indol noch bei der Bestrahlung von Skatol Anthranilsäure in nachweisbarer Menge entsteht. Aus beiden gemeinsam entsteht „n", das sich zwar auch mit Ehrlichs-Reagens durch eine Gelbfärbung nachweisen läßt, die jedoch erst nach 5 Minuten langem Erwärmen auf 50° C erscheint. Die Identifizierung von „n" und „m" ist bisher nicht gelungen.

5. Die Stufen des photolytischen Tryptophanabbaues im ungefilterten UV-Licht

a) Abbau des Tryptophans bis zur IES. Bei der Bestrahlung des Tryptophans in wäßriger Lösung unter Luftausschluß entsteht als erstes nachweisbares Photolyseprodukt Tryptamin, welches allein bestrahlt niemals IES in faßbarer Menge liefert, sondern Tryptophol und einen Stoff „T". Der Zusatz von 1 mg Tryptamin zur Tryptophan-Lösung erhöht jedoch die IES-Ausbeute um 32%. Es erhebt sich also die Frage, warum die Bestrahlung einer reinen Tryptamin-Lösung keine IES in nachweisbarer Menge liefert. Vergleicht man die Zersetzungsgeschwindigkeit des Tryptophols und der IES unter der Einwirkung des UV-Lichtes, so ist offensichtlich Tryptophol das photostabilere Indolderivat. Bei der Bestrahlung reiner Tryptamin-Lösungen besteht also die Möglichkeit, daß das gerade entstandene photostabile Tryptophol zwar auch weiter photolysiert wird, daß dessen Photolyse jedoch sehr viel langsamer verläuft als die Photolyse der IES. Diese dürfte, wenn sie aus Tryptamin in sehr geringer Menge entstehen sollte, sofort weiter photolysiert werden und deshalb mit der angewendeten Methode nicht nachweisbar sein. Auf welchem Wege können nun Tryptophol und IES aus Tryptamin entstehen? Larsen 1951 gibt in seinem Abbauschema (Abb. 4) für die Entstehung der IES den Weg über den β-Indolylacetaldehyd an. Eine Disproportionierung von 2 Molekülen β-Indolylacetaldehyd unter Wasseraufnahme und Bildung von IES und Tryptophol

ist aber unwahrscheinlich, da bei der Bestrahlung von β-Indolylbrenztraubensäure, die nach dem Schema LARSENS (Abb. 4) auch über den β-Indolylacetaldehyd abgebaut wird, kein Tryptophol nachgewiesen werden konnte. Das Tryptophol dürfte demnach das Produkt einer Nebenreaktion aus Tryptamin darstellen, da es bei der Bestrahlung reiner

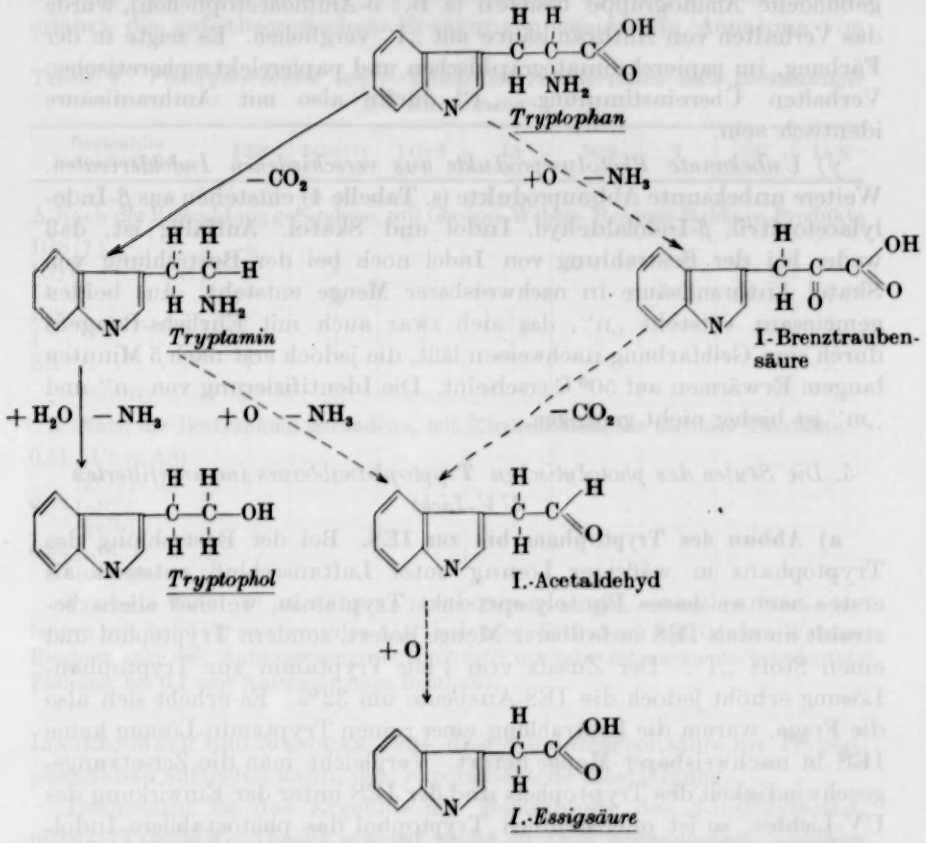


Abb. 5. Möglicher Abbauweg des Tryptophans (Seitenkettenoxydation) im ungefilterten UV-Licht einer Quarz-Analysenlampe bis zur IES (nachgewiesene Substanzen sind unterstrichen); möglicher Verlauf einer Ringoxydation s. Abb. 7

Tryptamin-Lösungen entsteht (Abb. 5). Eine IES-Bildung aus Tryptophol konnte ausgeschlossen werden, da ein Tryptophol-Zusatz die IES-Bildung reduziert; ihre Entstehung durch die Oxydation des β-Indolylacetaldehyds ist aber leicht denkbar.

β-Indolylbrenztraubensäure wird im UV-Licht verstärkt zur IES abgebaut. Diese Tatsache und die in wäßriger Lösung spontan erfolgende Oxydation zur IES lassen die Vermutung berechtigt erscheinen, daß β-Indolylbrenztraubensäure, wenn sie bei der Bestrahlung von

Tryptophan entstehen sollte, sofort über β-Indolylacetaldehyd zur IES oxydiert wird. Auch die Unbeständigkeit der Ketosäure beim Chromatographieren in ammoniakalischen Lösungsmitteln gestattet ihren Nachweis mit der angewendeten Methode nicht.

Der Abbau des Tryptophans durch UV-Licht kann also auf verschiedenen Wegen erfolgen (Abb. 5). Er kann sowohl über Tryptamin als auch über β-Indolylbrenztraubensäure verlaufen. Tryptophol dürfte auf Grund einer Nebenreaktion aus Tryptamin entstehen. Die IES-Bildung kann auf dem Wege über Tryptamin-β-Indolylacetaldehyd-IES oder über β-Indolylbrenztraubensäure-β-Indolylacetaldehyd-IES erfolgen. Es soll jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß auch die Bildung der IES durch Radikalreaktionen nicht ausgeschlossen ist (weitere Möglichkeiten der IES-Bildung und Umsetzungen im UV-Licht: s. BACHER 1929).

Die Ergebnisse MATSUDAS 1953 zeigen aber auch, daß wenigstens bei Luftzutritt eine Ringoxydation erfolgen kann. In 20 Stunden lang bestrahlten alkalischen Tryptophanlösungen fand er neben Kynurenin, Serin, Asparaginsäure und Alanin 3-Hydroxy-Anthranilsäure. Davon wurden die drei erstgenannten Substanzen ebenfalls in saurer und neutraler, Alanin in saurer und alkalischer und Tryptamin nur in saurer Lösung identifiziert.

b) Abbau der IES bis zur Ameisensäure. Der Abbau der IES (Abb. 6) dürfte dem von FISCHER 1954 und LINSER, MAYR und MASCHEK 1954 angegebenen Wege folgen, doch konnte beim Tryptophanabbau niemals β-Indolylglyoxylsäure gefunden werden. Da IES, allein bestrahlt, nachweisbare Mengen von β-Indolylglyoxylsäure und β-Indolaldehyd liefert, ist jedoch das Vorkommen von β-Indolylglyoxylsäure auch bei der Tryptophanphotolyse sehr wahrscheinlich[1]. Gestützt wird diese Annahme durch das Ergebnis der Bestrahlung reiner β-Indolylglyoxylsäure-Lösungen; dabei entstehen β-Indolaldehyd und β-Indolcarbonsäure, die beide auch bei der Photolyse des Tryptophans nachgewiesen werden konnten. Aus β-Indolcarbonsäure entsteht bei der Bestrahlung mit UV-Licht Anthranilsäure (vgl. MEYER und POHL 1956) und wahrscheinlich auch Indol. Da die Vorstufen der Anthranilsäure — der β-Indolaldehyd und die β-Indolcarbonsäure — auch bei der Bestrahlung von Tryptophan entstehen, ist es wahrscheinlich, daß diese Säure auch bei einer längeren Photolyse des Tryptophans nachgewiesen werden kann[2].

[1] Ihr Nachweis bei der Tryptophanphotolyse dürfte nicht nur auf Grund ihres IES-ähnlichen R_f-Wertes, sondern auch deshalb schwierig sein, weil die in zwei Stunden Bestrahlungszeit aus Tryptophan gebildete IES-Menge sehr viel geringer sein dürfte als die IES-Menge, welche bei der Bestrahlung reiner IES-Lösungen dem UV-Licht ausgesetzt wurde.

[2] Bei einer zwei Stunden lang bestrahlten Tryptophanlösung der angegebenen Konzentration ist noch keine Anthranilsäure festzustellen (vgl. auch S. 284).

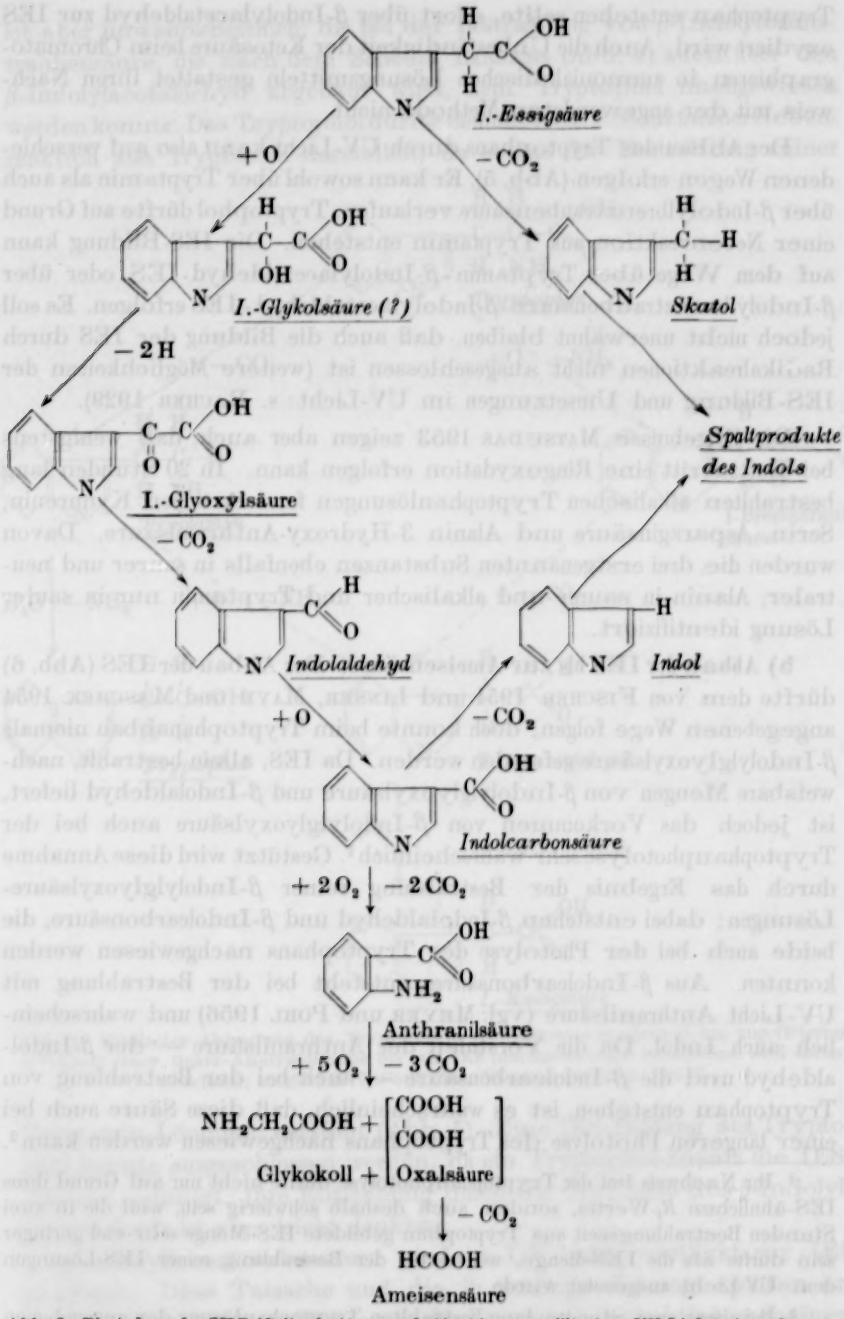


Abb. 6. Photolyse der IES (Seitenkettenoxydation) im ungefilterten UV-Licht einer Quarz-Analysenlampe bis zur Ameisensäure (nachgewiesene Substanzen sind unterstrichen)

Für die Entstehung der Anthranilsäure besteht bei ev. Ringoxydation des Tryptophans andererseits die Möglichkeit, daß sie z. T. auch ein Photolyseprodukt des Kynurenins darstellen kann (s. Abb. 7). Anthranilsäure zerfällt schließlich nach MEYER und POHL 1956 in Glykokoll und Ameisensäure.

In Übereinstimmung mit den Befunden von FISCHER 1954, BEHRENS und FISCHER 1954 und MAYR 1956 konnte auch ich Skatol nachweisen. Auch FERRI nahm schon 1951 für die Photolyse der IES einen Abbau über skatol- und indolartige Verbindungen an.

FISCHER konnte 1954 die β-Indolylglykolsäure identifizieren (s. jedoch Fußnote S. 266). Eine von MAYR 1956 bei der Photolyse der IES im UV-Licht gefundene rot-violette Zone mit ähnlichem R_f-Wert dürfte sich mit dieser und der in der vorliegenden Arbeit genannten Zone decken (s. Tabelle 4).

Weiterhin dürfte die Annahme MAYRs zutreffen, daß es sich bei seiner orange gefärbten Zone (R_f-Wert: 0,88) um den β-Indolaldehyd handelt.

VON LIEBEN und GERTREUER 1933 konnten zeigen, daß organische Verbindungen mit Stickstoff im Ringsystem durch Quarzlampenbestrahlung gespalten werden. Es ist daher anzunehmen, daß das im Laufe der Tryptophanphotolyse entstehende Skatol und Indol gleichfalls unter Ringspaltung weiter zersetzt wird. Möglicherweise handelt es sich bei der Zone „n" um ein derartiges Spaltprodukt. Auch eine Ringoxydation der IES darf auf Grund dieser Befunde in Erwägung gezogen werden (vgl. MANNING und GALSTON 1955).

Die Zonen „Y" und „Z" wurden außer bei der Photolyse des Tryptophans nicht wieder gefunden.

6. Tryptophanabbau in Gegenwart von organischen Stoffen

Im Abschnitt 4 wurde gezeigt, daß eine Tryptophol-Zugabe die IES-Bildung bei der Tryptophanphotolyse herabsetzt. Da eine Beeinflussung der Photolyse durch die Gegenwart anderer organischer Substanzen auch für die natürlichen Verhältnisse in der Pflanze von erheblicher Bedeutung sein dürfte, wurde die Wirkung organischer Beigaben auf die Tryptophanphotolyse im ungefilterten UV-Licht untersucht. Zu diesem Zweck wurden 6 verschiedene Versuche angesetzt: 5×10^{-3} mol. wäßrige Tryptophanlösungen erhielten einen Zusatz von 25% bzw. 50% Alkohol, von 5 bzw. 10% Weißkohlpreßsaft[1] sowie von 5 bzw. 10% Hühnereiklar. Diese Gemische wurden 2 Stunden mit

[1] Zur Gewinnung des Preßsaftes wurden Weißkohlblätter im Mörser mit Quarzsand zerrieben und der Brei durch ein Leinentuch gepreßt. Der Saft wurde 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert und die überstehende grüne Flüssigkeit in entsprechenden Anteilen zur Tryptophanlösung gegeben.

ungefiltertem UV-Licht bestrahlt und mit Kontrollen ohne diese Zusätze verglichen.

Der Anteil des Weißkohlpreßsaftes und des Hühnereiklars an der Tryptophanlösung wurden mit nur 5 und 10% angesetzt, da Vorversuche gezeigt hatten, daß schon 25%ige Lösungen so stark schützend wirkten, daß weder Tryptamin noch IES als Photolyseprodukte nachzuweisen waren.

Als Maß für die Tryptophanzersetzung wurde die nach 2 Stunden vorhandene Tryptamin- und IES-Menge verwendet.

Die Ergebnisse zeigten, daß die Bestrahlung der Tryptophan-Lösung, die 25% Alkohol enthielt, nur 79% des Tryptamin-Wertes der Kontrolle ergibt, und daß durch 50% Alkohol-Zusatz die Tryptaminmenge auf 69% der Kontrolle reduziert wird. Die entsprechenden Zahlen für die IES-Menge betragen 39 und 23% der Kontrolle. Alkoholzusatz verringert also die Tryptamin- und -IES-Ausbeute. Der Grund dafür kann theoretisch entweder in einer geringeren Bildung dieser Substanzen, oder auch in einer beschleunigten Photolyse bestehen. Gegen die zweite Möglichkeit sprechen jedoch die Ergebnisse von L. und M. BRAUNER 1954.

Sie bestrahlten Riboflavin-IES-Lösungen, die steigende Mengen Äthylalkohol enthielten. Obwohl genügend Luftsauerstoff zur Verfügung stand, nahm das Ausmaß der Photolyse mit steigender Alkoholkonzentration stark ab. Da in diesem Falle Äthylalkohol nicht als Sauerstoffquelle dienen konnte, schlossen die Autoren, daß in ihren Versuchen die Photolyse der IES durch die Menge des aktivierbaren Wassers begrenzt wird.

MAYR 1956 bestrahlte IES-Lösungen mit UV-Licht und fand in 96%igem Alkohol eine geringere IES-Zersetzung als in wäßriger Lösung.

Eine Beschleunigung der IES-Photolyse tritt also durch Alkoholzusatz offensichtlich *nicht* ein. Folglich muß die Verminderung der IES-Ausbeute bei Alkoholzusatz auf eine Hemmung bei ihrer Entstehung zurückgeführt werden.

Weißkohlpreßsaft und Hühnereiklar hemmen die Tryptophan-Photolyse noch erheblich stärker. Bei der Zugabe von 5% Preßsaft betrug die gefundene Tryptamin-Menge nur noch 40% der Kontrolle; 5% Eiweißzusatz reduzierte die Ausbeute um 28%. Wird der Anteil des Preßsaftes auf 10% erhöht, so wird die Tryptamin-Menge auf 34% der Kontrolle reduziert. 10% Eiweißzusatz verursacht eine noch stärkere Hemmung: Die nachweisbare Tryptamin-Menge wurde auf 25% der Kontrolle reduziert. In keinem der beiden Ansätze war die IES-Menge meßbar, auch wenn 0,3 cm^3 des Extraktes aufgetragen wurden.

MAYR 1956 untersuchte ebenfalls den Einfluß alkoholischer Pflanzenextrakte auf die Photolyse der IES im ultravioletten Licht und zeigte, daß die Zersetzung der IES gehemmt war.

Über den Schutzeffekt („protective effect") von Proteinen (Albumin und Blattprotein) bei der Einwirkung ionisierender Strahlen auf IES berichteten GORDON und WEBER 1955. Besonders Blattprotein zeigte eine starke Schutzwirkung, doch auch wäßrige Pflanzenextrakte waren wirksam.

Die vorliegenden Versuche mit Hühnereiklar und Weißkohlpreßsaft lassen möglicherweise eine ähnliche Deutung zu. Demgegenüber könnte die Wirkung des Äthylalkohols durch den Mangel des zur Photolyse notwendigen aktivierbaren Wassers erklärt werden.

Mishenko 1954 bestrahlte Lösungen verschiedener Aminosäuren, darunter auch Tryptophan unter Luft, Argon und Stickstoff und erhielt unter diesen verschiedenen Bedingungen ähnliche Absorptionskurven der Photolyseprodukte. Er schließt daraus, daß die Oxydation dieser Aminosäuren durch Abspaltung von Wasserstoff erfolgt und nimmt weiter an, daß Wasserstoffsuperoxyd gebildet wird, das als starkes Oxydationsmittel wirkt.

In einem vorhergehenden Abschnitt (S. 274) wurde darauf hingewiesen, daß ein Zusatz von Tryptophol zur Tryptophanlösung die IES-Bildung erheblich hemmt. Die Wirkung dieser Substanz darf möglicherweise als Konkurrenzeffekt ausgelegt werden.

II. Bestrahlung von Tryptophan mit gefiltertem ultraviolettem Licht

Die verschiedenen Spektralbereiche des ultravioletten Lichtes haben sehr unterschiedliche biologische Wirkungen (Meyer und Seitz 1949). Es war von Interesse, ob sich auch bei der Tryptophan-Photolyse Unterschiede feststellen ließen.

1. Zweistündige Bestrahlung des Tryptophans

Um einen ersten Anhalt über die Wirksamkeit der Strahlung der Wellenlängen $>300\ m\mu$ zu erhalten, wurden 5×10^{-3} molare Tryptophan-Lösungen durch 2,8 mm starkes Fensterglas bestrahlt. Nach den Ausführungen auf Seite 263 muß man in diesem Falle 216 Minuten bestrahlen, um diejenige Energiemenge zu erhalten, die einer zweistündigen Bestrahlung mit ungefiltertem Licht äquivalent ist.

Nach der genannten Einwirkungszeit war die bestrahlte Lösung gelblich verfärbt (Extraktionsmethode s. S. 267, aufgetragene Menge: 0,3 cm^3). Die mit Gordon-Webers-Reagens und van Ecks-Reagens behandelten Chromatogramme zeigten nur β-Indolaldehyd.

Das gefilterte Licht ($\lambda > 300\ m\mu$) bewirkt also ebenfalls eine Zersetzung der Tryptophanlösung. Demnach bewirken beide Spektralbereiche — $\lambda < 300\ m\mu$ und $\lambda > 300\ m\mu$ — eine β-Indolaldehydbildung aus Tryptophan; die durch die Einwirkung gefilterten UV-Lichtes entstehende β-Indolaldehydmenge ist jedoch sehr viel geringer als bei energieäquivalenter Bestrahlung mit dem Gesamtspektrum (visueller Vergleich beider mit van Ecks-Reagens sichtbar gemachten β-Indolaldehydzonen bei gleicher Extraktmenge). Weitere Photolyseprodukte konnten in nachweisbarer Menge nicht gefunden werden.

2. Zwanzigstündige Bestrahlung des Tryptophans

Um evtl. auch andere Zersetzungsprodukte zu erfassen, wurde die Bestrahlungszeit auf 20 Stunden ausgedehnt. Mit Sicherheit konnten

in der bestrahlten Lösung β-Indolaldehyd, β-Indolcarbonsäure, Indol und Anthranilsäure nachgewiesen werden, außerdem die in Tab. 4 erwähnten Stoffe „m" und „n". Für eine weitere Zone ließ die positive Reaktion mit Gordon-Webers-Reagens (dunkelbraun; Rf-Wert: 0,92; papierelektrophoretisches Verhalten: $\pm$ 0) und ihre starke Rotfärbung mit Ehrlichs-Reagens auf einen intakten Indolkern schließen (vgl. MANNING und GALSTON 1955). Die Zone wurde mit „W" bezeichnet. Ihre Identifizierung gelang bisher nicht.

Das Fehlen von Tryptamin sowie das Auftreten von β-Indolaldehyd als erstes faßbares Abbauprodukt läßt darauf schließen, daß die Abspaltung von Ammoniak und Kohlendioxyd zu den ersten Reaktionen der Photolyse im glasgefilterten UV gehört; der bisher geschilderte Weg des Tryptophanabbaues braucht also für gefiltertes Licht nicht zu gelten. Es besteht einerseits die Möglichkeit, daß Tryptamin und IES schneller zersetzt werden als sie aus Tryptophan entstehen, andererseits kann der Abbau des Tryptophans auf Grund von Radikalbildungen erfolgen, wobei eine Abspaltung der Seitenkette in größerer Ringnähe die Entstehung der IES und ihrer Vorstufen unmöglich machen kann.

Die Ringöffnung des Indolkerns konnte durch den Nachweis der Anthranilsäure erbracht werden. Gleichzeitig bestätigt der Nachweis dieser Säure nach der zwanzigstündigen Photolyse des Tryptophans im gefilterten UV die Annahme, daß der Abbau des Tryptophans im ungefilterten UV bei genügend langer Bestrahlung bis zur Ameisensäure verläuft.

III. Bestrahlung von Tryptophan mit Sonnenlicht

Zwischen der Strahlungsverteilung des Sonnen-UV und dem UV des Brenners S 500 bestehen erhebliche qualitative und quantitative Unterschiede (Abb. 1: MEYER und SEITZ 1949). Deshalb wurde auch die Wirkung des Sonnenlichtes auf die Photolyse des Tryptophans untersucht.

Nachweis der gefundenen Indolderivate und Diskussion des Abbauweges

In den Sommermonaten wurden Tryptophanlösungen (5×10^{-3} mol.) unter sterilen Bedingungen ungefähr 30 Stunden unter Luftzutritt in Quarzkolben (500 cm^3) dem Sonnenlicht ausgesetzt. Anschließend wurden die gelbbraun verfärbten Lösungen auf die vorhandenen Indolderivate untersucht. Es konnten identifiziert werden: IES, β-Indolaldehyd, β-Indolcarbonsäure, Indol und Anthranilsäure. Der Skatolnachweis war nicht eindeutig. Weitere nicht identifizierte auf Perchlorsäure und $FeCl_3$ reagierende Bestandteile dieses Extraktes gibt Tab. 5 wieder.

Tabelle 5. *Nichtidentifizierte Photolyseprodukte des Tryptophans bei Bestrahlung mit Sonnenlicht*

R_f-Wert	Farbe mit Gordon-Webers-Reagens	Elektrophoretisches Verhalten	p_H der Extraktion	Bezeichnung der Stoffe
0,38	gelb	+2,8—15 Min.	3	„U"
0,50	orange	+3,4—30 Min.	3	„X"
0,82	orange-rot	−2,6—30 Min.	9	„V"
0,92	braun-rot	±0 —30 Min.	9	„W"

Das p_H, bei dem die Stoffe „U" und „X" zu extrahieren waren (s. Tab. 5), und das papierelektrophoretische Verhalten, berechtigen zu der Annahme, daß es sich um Säuren handelt. Dabei stimmt „X" im papierelektrophoretischen und papierchromatographischen Verhalten mit dem der β-Indolylglykolsäure (?) überein. Die Farbe der Perchlorsäurereaktion weicht jedoch erheblich ab. Auch alle anderen in Tab. 1 angegebenen Säuren konnten ausgeschlossen werden. Stoff „V" ist mit keinem der im Verlaufe dieser Untersuchungen gefundenen Stoffe identisch. Stoff „W" stimmt mit dem gleich benannten Stoff des vorigen Abschnittes in der Färbung, im papierchromatographischen und dem papierelektrophoretischen Verhalten überein.

Durch die Arbeiten von Ganassini 1912 ist der Verlauf der Photolyse von Aminosäuren in wäßriger Lösung unter Einwirkung des Sonnenlichtes bei Luftzutritt bekannt. Ganassini fand, daß Aminosäuren im Sonnenlicht hydrolysieren. Dabei wird Ammoniak und Kohlendioxyd abgespalten und der Rest des Moleküls zum Aldehyd oxydiert. Es kann aber auch durch Verseifung die intermediäre Bildung einer Oxysäure angenommen werden, die dann wiederum durch photooxydativen Zerfall zum Aldehyd umgewandelt wird (Abb. 7).

Neuberg bestrahlte 1908 ebenfalls Tryptophan mit Sonnenlicht, und zwar in Gegenwart von Uransalzen als Katalysatoren. Er konnte danach einen „flüchtigen, aldehydähnlichen Körper, möglicherweise β-Indylacetaldehyd" nachweisen. Berthelot und Amoureux 1938 zeigten, daß aus Tryptophan bei Bestrahlung mit Sonnenlicht IES entsteht. Yoshida und Masaru 1954 bestrahlten Tryptophan in Gegenwart von Fe^{II}-Ionen und Methylenblau und in Abwesenheit von Sensibilisatoren. In allen Fällen fanden sie Kynurenin und 3-Hydroxykynurenin. Diese Tatsachen und die eigenen Ergebnisse machen den in Abb. 7 gegebenen Abbauweg des Tryptophans im Sonnenlicht möglich.

Das Auftreten unbekannter „Indolsäuren" („U", „X") spricht für die Zersetzung über β-Indolylmilchsäure (Abb. 7).

Stowe und Thimann 1954 und Vlitos und Meudt 1953 geben den R_f-Wert für β-Indolylmilchsäure mit 0,30 bis 0,33 an [Isopropanol (10), Ammoniak (1), Wasser (1)]; berücksichtigt man, daß geringe Änderung der Temperatur und des Lösungsmittels die R_f-Werte erheblich variieren lassen, und die Färbung der beiden unbekannten „Indolsäuren" mit Gordon-Webers-Reagens nach gelb hin tendiert (vgl. Stowe und Thimann 1954), darf die Möglichkeit der Übereinstimmung von („U") mit β-Indolylmilchsäure in Erwägung gezogen werden.

Eine Sicherung dieser Annahme mit Hilfe von Mischchromatogrammen und -pherogrammen war nicht möglich, da das synthetische Produkt nicht zur Verfügung stand.

Der Nachweis der Anthranilsäure im Bestrahlungsgemisch zeigt wiederum eine Spaltung des Indolkerns an (vgl. auch WEIL, GORDON

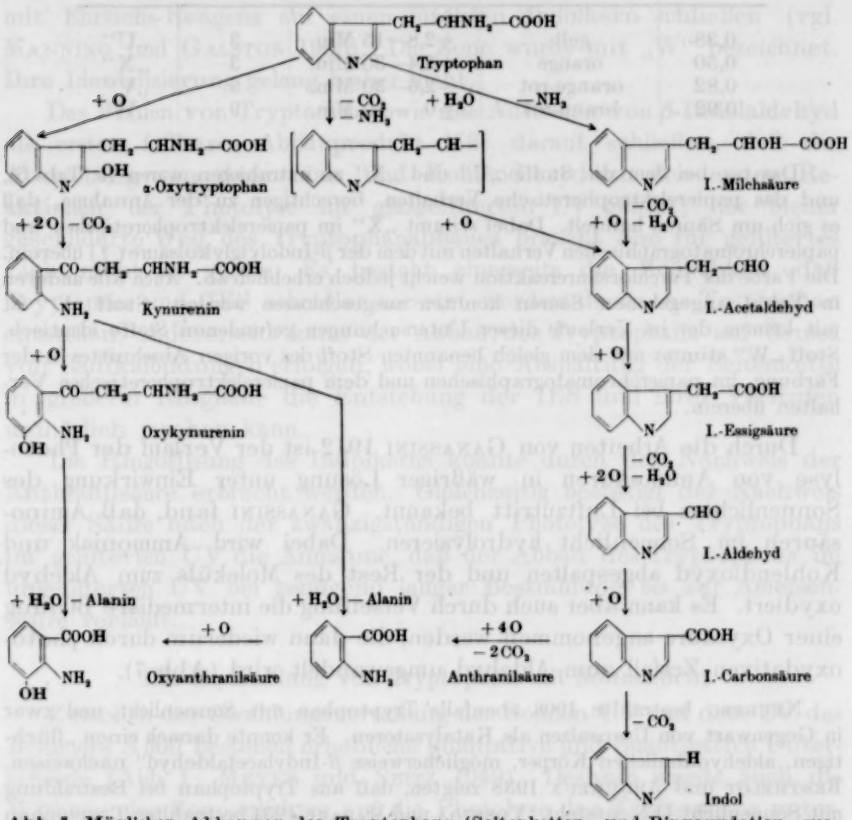


Abb. 7. Möglicher Abbauweg des Tryptophans (Seitenketten- und Ringoxydation, zus.-gest. bei B. FLASCHENTRÄGER u. E. LEHNARTZ, Physiologische Chemie, Bd. I. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951) bei der Photolyse durch Sonnenlicht

und BUCHERT 1951). Die angeführten Ergebnisse deuten auch hier auf zwei Oxydationsmöglichkeiten des Tryptophans hin: Seitenketten- und Ringoxydation (Abb. 7). Für die Entstehung der Anthranilsäure gilt deshalb ebenfalls das in Abschnitt 5, a und b, Gesagte. Daß die Photolyse bis zum Glykokoll und zur Ameisensäure verläuft, ist nicht ausgeschlossen, die Frage bleibt jedoch offen.

IV. Vergleich der bei verschiedenen Bestrahlungsweisen gefundenen Stoffe

Abschließend soll anhand einer Gegenüberstellung der bei den verschiedenen Bestrahlungsweisen auftretenden Photolyseprodukte die

unterschiedliche Wirkung der verschiedenen Bestrahlungsweisen zusammengestellt werden (Tab. 6).

UV, $\lambda < 300 m\mu$, bewirkt IES-Bildung. Gefiltertes Quarzlampen-UV, $\lambda > 300 m\mu$, unterscheidet sich in den gefundenen Photolyseprodukten vom ungefilterten UV-Licht durch das Fehlen von Tryptamin, Tryptophol, IES und β-Indolylglykolsäure (?). Im natürlichen UV der Sonne jedoch wird wiederum IES gebildet. Obwohl also das Sonnen-UV kaum kürzere Wellenlängen als $300 m\mu$ enthält, hat es doch mit diesem Licht

Tabelle 6. *Vergleich der bei verschiedenen Bestrahlungsweisen gefundenen Substanzen*

Künstliches UV des Brenners S 500		Sonnenlicht
$\lambda < 300 m\mu$	$\lambda > 300 m\mu$	
Tryptamin	—	—
Tryptophol	—	—
β-Indolylessigsäure	—	β-Indolylessigsäure
β-Indolylglykolsäure (?)	—	—
β-Indolaldehyd	β-Indolaldehyd	β-Indolaldehyd
β-Indolcarbonsäure	β-Indolcarbonsäure	β-Indolcarbonsäure
Indol	Indol	Indol
Skatol	Skatol	?
„Y"	—	—
„Z"	—	—
—	—	„U"
—	—	„V"
—	—	„W"
—	—	„X"
—	Anthranilsäure	Anthranilsäure

Linke Spalte nach 2, mittlere Spalte nach 20 und rechte Spalte nach 30 Stunden Bestrahlungsdauer.

die IES-Bildung aus Tryptophan gemeinsam, wenn diese auch auf anderem Wege erfolgt. Bezüglich der Bildung von β-Indolcarbonsäure stimmen Sonnen-UV und gefiltertes Quarzlampen-UV überein. β-Indolaldehyd und Indol treten bei jeder der drei Bestrahlungsarten auf. Auffällig ist die relativ reichliche Entstehung von β-Indolaldehyd im Sonnen-UV.

Die Versuche zeigen also, daß bei der Photolyse des Tryptophans unter der Einwirkung von Strahlung verschiedener Spektralbereiche in vitro gleiche Photolyseprodukte entstehen können; *ihre Bildung erfolgt jedoch über verschiedene Intermediärprodukte. Die im UV einer Quarz-Analysenlampe gefundenen Ergebnisse dürfen deshalb nicht ohne weiteres auf die natürlichen Verhältnisse im Sonnenlicht übertragen werden* (s. auch Brodführer 1955).

Zusammenfassung

1. Bei der Photolyse wäßriger Tryptophanlösungen im ungefilterten UV-Licht einer Quarz-Analysenlampe konnten Tryptamin, Tryptophol,

β-Indolylessigsäure, β-Indolylglykolsäure (?), β-Indolaldehyd, β-Indolcarbonsäure, Indol und Skatol als Photolyseprodukte identifiziert werden. Die Entstehung von β-Indolylglyoxylsäure und Anthranilsäure bei der Bestrahlung der β-Indolylessigsäure läßt darauf schließen, daß auch diese Säuren bei der Tryptophan-Photolyse im UV auftreten. Der Abbauweg des Tryptophans wird diskutiert.

2. Die Tryptophan-Photolyse wird durch Tryptophol, Alkohol, Hühnereiklar und Weißkohlpreßsaft gehemmt.

3. Bei der Einwirkung von glasgefiltertem UV-Licht der Quarz-Analysenlampe auf wäßrige Tryptophanlösungen konnten β-Indolylessigsäure, β-Indolcarbonsäure, Indol und Anthranilsäure nachgewiesen werden. Der Abbauweg wird diskutiert.

4. Bei der Einwirkung von Sonnenlicht auf Tryptophanlösung entstehen β-Indolylessigsäure, β-Indolaldehyd, β-Indolcarbonsäure, Indol und Anthranilsäure. Der Abbauweg wird diskutiert.

Literatur

BACHER, F.: Chemische Reaktionen organischer Körper im ultravioletten Licht und im Licht der Sonne. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. I Chem. Methoden; Teil 2, II, 1; allgemeine chemische Methoden **3**, S. 1339—1968. 1929. — BAUER, K. H.: Die organische Analyse, 2. Aufl. Leipzig: Geest & Portig 1950. — BEHRENS, M., u. A. FISCHER: Zerlegung von Stoffgemischen und Identifizierung von chemischen Substanzen durch Verdampfen und Kondensieren in einem Wärmegradienten. Naturwiss. **41**, 13 (1954). — BENTLEY, J. A., K. R. FARRAR, S. HOUSLEY, G. F. SMITH and W. TAYLOR: Some chemical and physiological properties of indole-3-pyruvic acid. Biochemic. J. **64**, 44 (1956). — BERTHELOT, A.: Recherches sur le Proteus vulgaris. Ann. Inst. Pasteur **28**, 839 (1914). — BERTHELOT, A., et G. AMOUREUX: Sur la formation de l'acide indol-3-acétique par l'action du rayonnement ultraviolet sur le tryptophan. C. r. Acad. Sci. Paris **206**, 699 (1938). — BRAUNER, L.: Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins. I. Z. Bot. **41**, 291 (1953). — BRAUNER, L., u. M. BRAUNER: Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins. II. Z. Bot. **42**, 83 (1954). — BREMNER, J. M., and R. H. KENTEN: Paper chromatography of Amines. Biochemic. J. **49**, 651 (1951). — BRODFÜHRER, U.: Der Einfluß einer abgestuften Dosierung von ultravioletter Sonnenstrahlung auf das Wachstum der Pflanzen. Planta (Berl.) **45**, 1 (1955). — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — BURKHOLDER, P. A., and E. S. JOHNSTON: Inactivation of plant growth substance by light. Smithsonian Inst. Misc. Coll. **95**, 1, H. 20 (1937). — CONSDON, R., and A. H. GORDON: Effect of Salt on Partition Chromatography. Nature (Lond.) **162**, 180 (1948). — DENFFER, D. v., M. BEHRENS u. A. FISCHER: Papierchromatographischer und papierelektrophoretischer Nachweis des β-Indolacetonitrils und des β-Indolaldehyds in Extrakten aus Kohlpflanzen. Naturwiss. **39**, 550 (1952). — DENFFER, D. v., u. A. FISCHER: Papierchromatographischer Nachweis des β-Indolaldehyds in photolytisch zersetzter IES-Lösung. Naturwiss. **39**, 549 (1952). — DENFFER, D. v., u. L. SCHLITT: Blühförderung durch Ultraviolettbestrahlung. Naturwiss. **38**, 568 (1951). — FERRI, M. G.: Bol. Dept. Bot. Univ. S. Paulo **9**, 1 (1951). Ref. bei L. BRAUNER 1953. — FISCHER, A.: Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta (Berl.) **43**, 288 (1954). —

GALSTON, A. W.: Riboflavin-sensitized photooxydation of indolacetic acid and related compounds. Proc. Nat. Acid. Sci. U.S.A. **35**, 10 (1949). — GANASSINI (1912): Ref. bei F. BACHER, S. 1706, 1929. — GORDON, S. A.: Occurence, formation and inactivation of auxins. Annual Rev. Plant Physiol. **5**, 365 (1954). — The biogenesis of natural auxins. Chemistry and mode of action of plant growth substances. Proc. Symp. Held at Wye Coll., Univ. London **1955**, 65. — GORDON, S. A., and F. SANCHEZ-NIEVA: The biosynthesis of auxin in the vegetative pineapple. II. The precursors of indole acetic acid. Arch. of Biochem. **20**, 367 (1949). — GORDON, S. A., and R. P. WEBER: Colorimetric estimation of indole acetic acid. Plant Physiol. **26**, 192 (1951). — Studies on the mechanism of phytohormon damage by ionizing radiation. I. The radiosensitivity of indole-acetic acid. Plant Physiol. **30**, 200 (1955). — GREENBERG, J. B., A. W. GALSTON, K. N. F. SHAW and M. D. ARMSTRONG: Formation and Auxin Activity of Indole-3-Glycolic Acid. Science **125**, 992 (1957). — GUGGENHEIM, M.: Die biogenen Amine, 4. Aufl. Basel u. New York: S. Karger 1951. — HARE, D., and H. KERSTEN: Effect of ultraviolet radiation on Indole-3-n-propionic acid. Plant Physiol. **12**, 509 (1937). — JONES, E. R., H. B. HENBEST, G. F. SMITH and J. A. BENTLEY: 3-indole-aceto-nitril, a naturally occuring plant growth hormone. Nature (Lond.) **169**, 485 (1952). — KANDLER, O.: Papierchromatographischer Nachweis der Aminosäureausscheidung in vitro kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturforsch. **66**, 437 (1951). — KLINGMÜLLER, W.: in vitro-Studien an Heteroauxin. Diplomarbeit der Justus Liebig-Hochschule, Gießen 1955. — LARSEN, P.: 3-Indole-Acetaldehyd as a growth hormone in higher plants. Dansk bot. Ark. **11**, 1 (1944). — Occurence, formation and inactivation of growth substances. Annual Rev. Plant Physiol. **2**, 365 (1951). — LIEBEN, F., u. V. GERTREUER: Über die Aufspaltung von stickstoffhaltigen, zyklischen Verbindungen im Lichte der Quarzlampe. Biochem. Z. **259**, 1 (1933). — LINSER, H., H. MAYR u. F. MASCHEK: Papierchromatographie von zellstreckend wirksamen Indolkörpern aus Brassica-Arten. Planta (Berl.) **44**, 103 (1954). — LINSKENS, H. F.: Die Papierchromatographie in der Botanik, 1. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — MANNING, D. T., and A. W. GALSTON: On the nature of the enzymatically catalized oxydation products of indoleacetic acid. Plant Physiol. **30**, 225 (1955). — MATSUDA, G.: Nagasaki Igakkai Zasshi **28**, 438 (1953). Ref. Chem. Abstr. **48**, 6842 (1954). — MAYR, H.: Zur Photolyse von Indol-3-Essigsäure bei papierchromatographischen Arbeiten. Planta (Berl.) **46**, 512 (1956). — MEYER, A. E., u. O. E. SEITZ: Ultraviolette Strahlen, 2. Aufl. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1949. — MEYER, J., u. R. POHL: Neue Erkenntnisse zum Problem der phototropen Krümmung bei höheren Pflanzen. Naturwiss. **43**, 114 (1956). — MISHENKO, P. I.: Biochimija **19**, 268 (1954). Ref. Chem. Abstr. **48**, 11512 (1954). — MITCHELL, J. W., and B. C. BRUNSTETTER: Colorimetric methods for the quantitative estimation of Indole-3-acetic acid. Bot. Gaz. **100**, 802 (1939). — NEUBERG, C.: Chem. Umwandlung durch Strahlenarten. I. Mitt. Katalytische Reaktionen des Sonnenlichtes. Biochem. Z. **13**, 305 (1908). — PARTRIDGE, S. M.: Filter-paper partition chromatography of sugars. 1. General description and application to the qualitative analysis in apple juice, egg white and foetal blood of sheep. Biochemic. J. **42**, 238 (1948). — REINERT, J.: Wachstum und Bewegung. Fortschr. Bot. **16**, 330 (1954). — SCHNEIDER, G.: Biochemische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen zur Frage des Schossens und der Blütenbildung der Zuckerrübe. Diss. der Naturwissenschaftl. Fakultät der Justus v. Liebig-Universität, Gießen 1957. — SCHNEIDER, G., u. G. SPARMANN: Über ein Verfahren zur Durchführung der Papier-Hochspannungselektrophorese ohne Kühlung. Naturwiss. **42**, 156 (1955). — SEN, S. P., and A. C. LEOPOLD: Papierchromatography of plant growth regulators and allied compounds. Physiol. Plantarum (Copenh.) **7**, 98 (1954). — SKOOG, F.: A deseeded avena-test method for small amounts of auxin and auxin precursors. J. Gen. Physiol.

20, 311 (1937). — Sparmann, G.: Ein Beitrag zur Biochemie und Physiologie der Blütenbildung der Wintergerste. Diss. der Naturwissenschaftl. Fakultät der Justus v. Liebig-Universität, Gießen 1957. — Stowe, B. B., and K. V. Thimann: The paper chromatography of Indole compounds and some Indole containing auxins of plant tissues. Arch. of Biochem. a. Biophysics **51**, 499 (1954). — Vlitos, A. J., and W. Meudt: The role of auxin in plant flowering. I. A quantitative methode based on paper chromatography for the determination of indole compounds and of 3-Indole acetic acid in plant tissues. Contrib. Boyce Thompson Inst. **17**, 197 (1953). — Weil, L., W. G. Gordon and A. R. Buchert: Photooxydation of amino acids in the presence of methylene blue. Arch. of Biochem. **33**, 90 (1951). — Wildmann, S. G., M. G. Ferri and J. Bonner: The enzymatic conversion of tryptophan to auxin by spinach leaves. Arch. of Biochem. **13**, 131 (1947). — Yoshida, Z., and K. Masaru: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 31 (1954). Ref. Chem. Abstr. **48**, 3796 (1954).

Dr. Heinrich Melchior,
(16) Wächtersbach, Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft,
Institut für Forstgenetik und Pflanzenzüchtung

Planta, Bd. 50, S. 291—314 (1957)

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Bonn

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE FLÜCHTIGEN AMINE DER PFLANZEN*

I. Mitteilung
METHODIK DER TRENNUNG UND DES NACHWEISES FLÜCHTIGER AMINE

Von

ELARD STEIN VON KAMIENSKI

Mit 31 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. Juli 1957)

A. Einleitung und Vorbemerkungen

Vor längerer Zeit haben G. KLEIN und M. STEINER (1928), M. STEINER (1929) und M. STEINER und H. LÖFFLER (1929) ein mikrochemisches Verfahren zum Nachweis flüchtiger Amine in Pflanzenorganen angegeben. Für die Identifizierung wurden in der Hauptsache die krystallographischen Eigenschaften und die Schmelzpunkte der 2,4-Dinitro-α-naphthol-Verbindungen verwendet. Die Amine wurden entweder in Pflanzendestillaten nachgewiesen oder unmittelbar in den Pflanzenorganen durch Freisetzung mit Alkali. Die Methode erwies sich als empfindlich genug, um in einer Anzahl von Fällen sogar die von Pflanzenorganen exhalierten Amine nachzuweisen und zu identifizieren. Das Verfahren von KLEIN und STEINER hat aber seine Grenzen. Die Identifizierung von Amingemischen ist damit nicht leicht durchführbar, besonders dann, wenn kleine Mengen eines Amins neben größeren Mengen eines anderen oder mehreren anderen Aminen vorliegen.

Die günstigen Ergebnisse, welche die papierchromatographische Methode bei der Identifizierung von Aminosäurengemischen und von Alkaloiden gezeitigt hatte, ließen es aussichtsreich erscheinen, das gleiche Verfahren auch für die Trennung der Amine zu verwenden, zumal einige Angaben über positive Ergebnisse (s. u. S. 292) bereits in der Literatur vorlagen.

Über diese methodischen Arbeiten wird in der vorliegenden Mitteilung berichtet. Die Ergebnisse der Untersuchungen einer größeren Anzahl von höheren Pflanzen und von Pilzen bleiben späteren Veröffentlichungen vorbehalten (E. STEIN v. KAMIENSKI, 1957, 1958).

* Teil einer Dissertation der Math.-naturw. Fakultät der Universität Bonn (D 5) in gekürzter Druckfassung.

Die Arbeit wurde durch Herrn Professor Dr. MAXIMILIAN STEINER angeregt. Für seinen Rat und seine Hilfe bei der Durchführung bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Für die methodischen Voruntersuchungen mit bekannten Reinsubstanzen standen folgende 35 Amine zur Verfügung:

Methyl-, Dimethyl-, Trimethyl-, Aethyl-, Diaethyl-, Triaethyl-, n-Propyl, i-Propyl-, Di-n-propyl-, Di-i-propyl-, i-Butyl-, n-Butyl-, sec. Butyl-, Di-n-butyl-, Tri-n-butyl-, n-Amyl-, i-Amyl-, Di-n-amyl-, Di-i-amyl-, Tri-n-amyl-, n-Hexyl-, n-Heptyl-, n-Octyl-, n-Decyl-, Benzylamin, Phenylaethylamin, Tyramin (p-Oxyphenylaethylamin), Tryptamin (Indolylaethylamin), Cadaverin, Putrescin, Allylamin, Histamin, Aethanol-, Di-aethanol-, Tri-aethanolamin. Außerdem wurde Ammoniak in die Untersuchungen einbezogen.

Die Substanzen wurden in der Hauptsache von den Firmen Merck (Darmstadt), Hoffmann-La Roche (Grenzach/Basel), Fluka (Buchs SG, Schweiz) und Schuchardt (München) bezogen. Herr Professor Dr. F. MIETZSCH (Bayer-Werke, Elberfeld) stellte uns einige im Handel nicht erhältliche Amine zur Verfügung. Herr Professor Dr. H. STETTER (Bonn, jetzt München) besorgte die Synthese einiger Substanzen[1].

Alle Amine wurden für die methodischen Untersuchungen in Form der Hydrochloride verwendet. Gegebenenfalls wurden die aus dem Handel bezogenen freien Basen in üblicher Weise in die Hydrochloride übergeführt. Die Hydrochloride, besonders der niederen Amine, sind äußerst hygroskopisch. Sie müssen in dicht schließenden Schliffgefäßen aufbewahrt werden. Bei der Einwaage sind entsprechende Kautelen zu beachten.

B. Papierchromatographische Trennung[2]

I. Schrifttum

Die bisherigen Angaben des Schrifttums über die papierchromatographische Trennung von Aminen sind spärlich. J. M. BREMNER und C. KENTEN (1951), W. BAKER, J. B. HARBORNE und W. D. OLLIS (1952 a, b), R. SCHWYZER (1952), W. DIHLMANN (1953) und R. NEU und U. FIEDLER (1954) haben zum Gegenstand berichtet. Sie berücksichtigen aber durchweg nur eine geringe Anzahl einzelner Substanzen, außerdem fast nur die primären, kaum die sekundären und tertiären Amine. Schon bei den ersten Vorversuchen mit den von den genannten Forschern angegebenen Methoden zeigte sich, daß sich beim Vorliegen größerer Substanzmengen durch Schwanzbildung im Chromatogramm erhebliche Schwierigkeiten ergaben.

Nach dem Erscheinen unserer eigenen vorläufigen Mitteilung hat sich W. DIHLMANN (1954) nochmals in einer Arbeit über den papierchromatographischen Nachweis der Amine geäußert. Es werden die R_f-Werte von 16 primären, sekundären und tertiären Aminen auf dem Papier WF 1 (GESSNER und KREUZIG, Niederschlag-Erzgeb.) mit n-Butanol/Eisessig/Wasser (4/1/5) angegeben. Zum Fleckennachweis werden Ninhydrin, Na-β-Naphthochinonsulfat für die primären und sekundären

[1] Den Herren Proff. Dr. F. MIETZSCH und Dr. H. STETTER sowie der Deutschen Hoffmann-La Roche AG danken wir für ihre wertvolle Unterstützung.

[2] Wegen der Einzelheiten der methodischen Untersuchungen vgl. E. STEIN v. KAMIENSKI (1955).

Amine, Joddampf für die tertiären Amine empfohlen. In einem Nachtrag erwähnt der Verf., daß sich auch in seinen Versuchen die von M. STEINER und E. STEIN v. KAMIENSKI (1953) für den Aminnachweis benutzte Papierimprägnierung bewährt habe.

II. Allgemeine Bemerkungen

Alle papierchromatographischen Untersuchungen, über die diese Arbeit berichtet, wurden nach dem aufsteigenden Verfahren durchgeführt. Mit bestem Erfolg wurden die von H. HELLMANN (1951) angegebenen Zylinder verwendet. Zum Aufhängen der Papierstreifen verwendeten wir eine von W. ESCHRICH (unveröffentlicht) eingeführte Vorrichtung, die sich in unserem Laboratorium und in anderen Bonner Instituten gut bewährt hat.

Die Aufhänge-Vorrichtung nach ESCHRICH besteht aus einem 8-strahligen Stern aus rostfreiem Stahl, der mit dem aus gleichem Material bestehendem Führungsstab verbunden ist. Dieser läuft durch den Stopfen in dem Deckeltubus des HELLMANN-Zylinders. Zur Befestigung der Papierstreifen, je ein Streifen 40×7 cm auf jedem Sternradius, dienen die im Fotolaboratorium üblichen Korkklammern.

Nach unseren Erfahrungen bietet diese Abänderung der HELLMANNschen Apparatur 3 Vorteile: 1. sie ist unzerbrechlich, 2. die Papierstreifen können beim Senken nicht aushaken, wie das bei der HELLMANNschen Vorrichtung nicht selten vorkommt, 3. es können 8 Chromatogramme (statt 4) gleichzeitig entwickelt werden. Bei Serienanalysen ergibt sich also eine erfreuliche Ersparnis an Raum und Gerät.

III. Papiersorte

Es wurden folgende Papiersorten für unsere speziellen Verwendungszwecke geprüft: SCHLEICHER und SCHÜLL 2043 b (jetzt 2043 b Gl), 2043 Gl, 2043 M (jetzt 2043 b M), WHATMAN Nr. 1 und Nr. 4. Es wurde auf Wanderungsgeschwindigkeit, Trennvermögen für primäre, sekundäre und tertiäre Amine, Neigung zur Schwanzbildung, Ausfall der Nachweisreaktionen, insbesondere der Joddampfreaktion für primäre und tertiäre Amine geachtet. Wegen der aus Vorversuchen bekannten Überlegenheit des mit Natriumacetat vorbehandelten Papiers wurden stets auch vorbehandelte und unvorbehandelte Papiere miteinander verglichen. Als Laufmittel dienten bei diesen Versuchen n-Butanol/Wasser/Eisessig (40/50/10) und (50/49/1).

Für unsere Zwecke erwiesen sich als besonders günstig

a) SS 2043 b (jetzt b Gl), mit Na-Acetat vorbehandelt; für die Trennung der primären Amine.

b) SS 2043 M (jetzt b M), unvorbehandelt, für Trennung und Nachweis der sekundären und tertiären Amine.

Unter den WHATMAN-Papieren liefert Nr. 1 ähnliche Resultate wie SS 2043 b Gl. Es hat eine etwas geringere Laufzeit als dieses, ist aber

teurer. Nr. 4 ist ein sehr schnell laufendes Papier, welches sich deshalb für orientierende Vorversuche empfiehlt; es kann mit und ohne Acetatimprägnierung verwendet werden.

IV. Papiervorbehandlung

Wie schon früher erwähnt, wurden in allen Lösungsmitteln bei primären Aminen nur recht unbefriedigende Resultate erzielt. Sie bilden Schwänze, übergreifen einander, und ihre R_f-Werte liegen sehr nahe beieinander, so daß eine Trennung kaum möglich ist. Durch Vorbehandlung des Papiers konnte die Schwanzbildung der Flecken vermieden und eine bessere Trennung erzielt werden.

R. MUNIER und M. MACHEBOEF (1951, 1952) haben dieses Verfahren für Alkaloide und andere N-haltige Basen eingeführt. Sie erhielten mit diesen den Aminen verwandten Verbindungen eine bessere Trennung und Fleckenform (R. MUNIER 1952). R. MUNIER und M. MACHEBOEF verwandten zwei Arten der Vorbehandlung; sie benutzten Phosphatpufferlösungen (1951) und Salze desjenigen Anions, das als Säure im Laufmittel enthalten war (1952).

Bei unseren eigenen Versuchen über eine geeignete Vorbehandlung wurden die Papierstreifen (meist SS 2043 b Gl) in die betreffende Lösung ganz eingetaucht und an der Luft hängend getrocknet. Die überschüssige Lösung tropfte dabei nach unten ab.

Als Laufmittel diente bei diesen Versuchen wieder, in der Regel, n-Butanol/Eisessig/Wasser (50/40/10) und (50/49/1).

Im einzelnen wurden folgende Lösungen zur Papierimprägnierung verwendet: KH_2PO_4 (0,5 mol), NaH_2PO_4 (0,5 mol), K_2HPO_4 (2%), Na_2HPO_4 (2%), Citratpuffer (verschiedene Konzentrationen), Oxalatpuffer (desgl.), Natriumacetat (0,1, 0,15, 0,2, 0,5 mol), Ammonacetat (0,1, 0,15, 0,2 mol), Kupferacetat (0,15, 0,2 mol), KCl (0,2 mol), NaCl (0,2 mol).

Für *primäre* Amine erhält man bei Imprägnierung mit 0,15 mol Na-Acetat sehr günstige Resultate; die Schwanzbildung wird vermieden, Begrenzung und Trennung der Flecken werden entschieden verbessert. Die Ninhydrinreaktion wird nicht gestört. Für *sekundäre* und *tertiäre* Amine hingegen sind unvorbehandelte Papiere geeigneter, da alle Imprägnierungsmittel eine starke Mitfärbung des Papiers im Joddampf verursachen. Es konnte also keine Art der Papiervorbehandlung gefunden werden, welche gleichermassen für primäre, sekundäre und tertiäre Amine brauchbar ist.

V. Laufmittel

Es wurden vor allem die in der Literatur angegebenen Lösungsmittelgemische geprüft. Da diese Angaben, wie bereits angedeutet, für Amine spärlich und fragmentarisch sind, wurden auch Laufmittel zur Untersuchung herangezogen, die für Aminosäuren bzw. für Alkaloide empfohlen worden sind.

Die vergleichenden Untersuchungen wurden in der Regel aufsteigend mit dem Papier SCHLEICHER und SCHÜLL 2043 b Gl durchgeführt. Es wurde besonders auf eine gute Trennung der einzelnen Amine und auf die Möglichkeit eines empfindlichen Nachweises mit den später beschriebenen Reagentien geachtet.

Geprüft wurden: Phenol/Wasser (100/25, Epiphase), Phenol/Wasser/Eisessig (70/20/10), (81/15/4), Kresol/Wasser/Eisessig (30/48/2, Epiphase), Aceton/Wasser (40/60), (60/40), Phenol/n-Butanol/Wasser/Eisessig (20/60/10/10), Methanol/Wasser (92/8), (90/10), n-Butanol/Wasser/Eisessig (40/50/10, Epiphase), (desgl. in Eisessigatmosphäre), (60/36/4, Epiphase), (50/49/1, Epiphase), (50/20/30), n-Butanol/Wasser/HCl (70/20/10), (80/15/5), n-Butanol/Wasser (50/50, Epiphase), n-Butanol/Propionsäure/Wasser (30/5/25, Epiphase), (10/5/7), n-Butanol/Aethanol/Wasser/NH_4OH (90/10/97/1, Epiphase), n-Butanol/Wasser/Ameisensäure (40/50/10, Epiphase), (50/48/2, Epiphase), Aether/Wasser (gesättigt), Benzol (verschiedene Kombinationen), Aethanol/Wasser/Eisessig (40/50/10), (50/48/2), Methanol/Wasser/Eisessig (40/50/50), (50/48/2) n-Butanol/Wasser/Citronensäure (50/49/1, Epiphase), n-Butanol/Wasser/Oxalsäure (50/49/1, Epiphase), Collidin/Wasser (50/50, Epiphase), insgesamt also 32 verschiedene Laufmittel.

Wegen der im einzelnen erhaltenen Resultate sei auf E. STEIN v. KAMIENSKI (1955) verwiesen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich die n-Butanol/Wasser/Eisessig-Gemische als besonders brauchbar erwiesen haben. An Stelle von Eisessig kann auch Ameisensäure treten. Als Regel darf bei diesen Gemischen gelten, daß eine Erhöhung des Säure- und damit des Wassergehaltes zu einer Erhöhung der R_f-Werte führt.

Zur praktischen Verwendung kam hauptsächlich das Gemisch n-Butanol/Wasser/Eisessig (50/49/1), zur Kontrolle, im Falle von Unklarheiten, häufig auch n-Butanol/Wasser/Eisessig (50/40/10), das von der Zucker-Analyse bekannte „*Partridge*-Gemisch" (S. M. PARTRIDGE, 1948). Ersteres ergab bei primären Aminen auf Papier, welches (s. o.) mit 0,15 mol Na-Acetat imprägniert war, bei sekundären und tertiären Aminen auf unbehandeltem Papier sehr gute Resultate.

Zur Gruppendifferenzierung cyclischer Amine, Diamine und Aethanolamine wurde in kritischen Fällen das Gemisch Collidin/Wasser (50/50) benutzt. Bei Verwendung dieses Laufmittels sind die soeben genannten Amine gut getrennt und mit großer Empfindlichkeit nachweisbar, überhaupt nicht hingegen die aliphatischen primären, sekundären und tertiären Amine.

VI. Reagentien zum Fleckennachweis im Chromatogramm

Auch hier wurden nicht nur die Farbreagentien überprüft, welche die Literatur zum Nachweis von Aminen — im Chromatogramm oder im Reagensglas — angibt, sondern auch eine Reihe der zum Aminosäurennachweis bewährten Reagentien. Eine Störung durch Aminosäuren war in unseren Chromatogrammen ja von vornherein *nicht* zu

erwarten, da die Amine aus dem Pflanzenmaterial durch alkalische Destillation abgetrennt wurden. Besonders für den Nachweis der tertiären Amine wurde auch eine Reihe von Alkaloid- und Cholinreagentien durchprobiert. Zu achten war bei dieser Vorprüfung vor allem auf eine möglichst große Empfindlichkeit, d. h. eine möglichst niedrige Erfassungsgrenze, außerdem natürlich auf die Breite bzw. Spezifität der Reaktionen.

Im einzelnen wurden folgende Reagentien, z. T. in verschiedener Zusammensetzung und Anwendungsform, auf Brauchbarkeit geprüft:

Ninhydrin (C. NEUBERG, 1913, 1914, J. M. BREMNER u. C. KENTEN, 1951, W. DIHLMANN, 1953, R. BLOCK, 1952).

o-Acetoacetylphenol (W. BAKER, J. B. HARBONE und W. D. OLLIS, 1952a, b).

n-Bromsuccinimid (M. Z. BARAKAT u. G. M. MOUSA, 1952).

1,2-Naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium (Folin-Reagens) (D. MÜTING, 1952, W. DIHLMANN, 1953, K. V. GIRI u. A. NAGABHUSHANAM, 1952).

Bromphenolblau (R. SCHWYZER, 1952).

Nitroprussidnatrium + *Acetaldehyd* (F. FEIGL u. V. ANGER, 1939, F. FEIGL, 1954).

Nesslers Reagens (M. GUGGENHEIM, 1951).

Meyers Reagens (M. GUGGENHEIM, 1951).

Pikrinsäure, Pikrolonsäure, Trinitro-m-kresol (M. GUGGENHEIM, 1951).

Tetraphenylbornatrium (Kalignost) (G. SCHULTZ und E. MAYER, 1952, P. MARQUARDT u. G. VOGG, 1952).

cis-Aconitsäureanhydrid (M. PALUMBO, 1948, B. T. CROMWELL, 1950).

Chinon (R. MUNIER u. M. MACHEBOEF, 1951).

Wismutsubnitrat (R. MUNIER u. M. MACHEBOEF, 1951).

Dipikrylamin (G. MALYOTH u. H. W. STEIN, 1951).

Phosphormolybdänsäure (E. CHARGAFF, C. LEVIN u. C. GREEN, 1948, und R. MUNIER u. M. MACHEBOEF, 1951).

Chloranil.

Kaliumpermanganat (R. BLOCK, 1952).

Jod (als Lösung und als Dampf, G. BRANTE, 1949).

Brom.

Es wurde auch der Versuch gemacht, die Aminhydrochloride über das Cl-Anion nachzuweisen. Das ist aber nicht möglich. In den sauren Laufmitteln wandern erwartungsgemäß die Kationen und Anionen getrennt. Die mit $AgNO_3$ nachweisbaren Cl-Flecken liegen im Chromatogramm stets an denselben Stellen, gleichgültig, welches Aminhydrochlorid zum Versuch verwandt wurde.

Von den oben genannten Reagentien erwiesen sich die folgenden als besonders geeignet.

1. Für primäre Amine. *Ninhydrin.* Verwendet wurde eine 0,1%ige Lösung in n-Butanol, der eine Spur Eisessig zugesetzt wurde (R. BLOCK, 1952). Auch ein 1%iger Zusatz von Pyridin hat sich bewährt.

Die Papiere werden nach dem Trocknen mit dem Reagens besprüht und 10 min im Thermostaten auf 90—100° erhitzt.

Primäre Amine geben dunkelrote Flecken. Die Erfassungsgrenze liegt auf vorbehandeltem Papier bei 0,6 γ Aminhydrochlorid, auf unvorbehandeltem Papier bei 1 γ.

Sekundäre Amine reagieren mit helleren Farben; Erfassungsgrenze etwa 10—20 γ.

Tertiäre Amine reagieren nicht.

2. Für sekundäre Amine. *a) Nitroprussidnatrium.* Das von F. Feigl und V. Anger (1939) und F. Feigl (1954) für den Tüpfelnachweis verwendete Reagens wurde etwas abgeändert: Eine 3%ige Lösung von Nitroprussidnatrium in destilliertem Wasser wurde mit 10% Acetaldehyd und 3% $NaHCO_3$ versetzt.

Nach dem Besprühen des Chromatogramms bilden sich während des langsamen Trocknens blaue Flecken, die sich bis 30 min nach dem Trocknen noch verstärken und nach etwa 2 Std verschwinden. Tertiäre Amine reagieren nicht, primäre geben in Mengen über 10 γ blaßrotblaue Farben, sekundäre reagieren sehr empfindlich (1—2 γ) mit tiefblauer Farbe. Auch auf Papier, das mit Acetat vorbehandelt wurde, ist die Reaktion genau so empfindlich. Eine vorhergehende Jodbedampfung vermindert die Empfindlichkeit. Zu beachten ist, daß das Reagens immer frisch zum Gebrauch angesetzt werden muß. *Dies ist die empfindlichste und spezifischste Reaktion für sekundäre Amine.*

b) Chinon. Reagens (nach R. Munier und M. Macheboef, 1950): 50 mg Chinon, 1 ml Pyridin, 14 ml n-Butanol, jeweils zum Gebrauch frisch bereitet.

In vitro entstehen mit primären Aminen hellrote, mit sekundären dunkelrote, mit tertiären gelbe Färbungen. Auf dem Chromatogramm ergeben sich im allgemeinen nur unempfindliche und schwache Farbreaktionen. Nur *Dimethylamin* liefert eine intensiv rote Farbe, die noch bei 1 γ gut zu erkennen ist. *Es liegt also ein gutes und sehr empfindliches Reagens speziell für Dimethylamin vor.*

3. Für tertiäre Amine. *a) Joddampf.* In einem Exsiccator wird durch Einbringen von Jodkristallen eine mit Joddampf gesättigte Atmosphäre geschaffen. In diese werden die getrockneten Chromatogrammstreifen für 24 Std gelegt.

Bei allen Aminen bilden sich dunklere Flecken auf leicht gelblichem Grunde. Empfindlichkeit und Farbton sind aber für die einzelnen Amingruppen verschieden. Am empfindlichsten reagieren tertiäre Amine mit braunroter Farbe; noch Mengen von 1 γ sind gut nachweisbar. Sekundäre Amine ergeben heller braune Färbungen; besonders die höheren Homologen ab C_4 sind gut sichtbar. Primäre Amine erscheinen nur ab 20 γ als hellere graublaue Flecken. Ammoniak reagiert erst ab 25 γ mit graubrauner Farbe. Nach dem Verdampfen des Jods verschwinden auch die Flecken wieder. Die Chromatogramme können dann noch für die meisten anderen Nachweisverfahren verwendet werden.

Diese Reaktion wurde für die Vorprüfung auf das Vorhandensein von tertiären Aminen verwendet. Ihr Vorteil liegt in der hohen Empfindlichkeit (für tertiäre Amine), ihr Nachteil in der geringen Spezifität.

b) Phosphormolybdänsäure. Es können zwei Verfahren verwendet werden.

1. Verfahren nach E. CHARGAFF, C. LEVIN u. C. GREEN (1948). Die Streifen werden mit 2%iger Lösung von Phosphormolybdänsäure in dest. Wasser besprüht. Die noch feuchten Papiere werden in mehrmals gewechseltem Wasser gewaschen. Nach Reduktion in einer Lösung von 1 g $SnCl_2$ in 100 ml 20%iger HCl erscheinen die Flecken der tertiären und der höheren sekundären Amine in tiefblauer Farbe auf leicht blaßblauem Grunde. Auch die niederen sekundären Amine reagieren. Ihre Verbindungen sind aber leicht wasserlöslich. Sie werden deshalb ausgewaschen. Die Erfassungsgrenze dieses ursprünglich für Cholin angegebenen Verfahrens liegt für tertiäre Amine bei 5 γ, für sekundäre Amine bei 3 γ.

2. Verfahren nach R. MUNIER und M. MACHEBOEF (1951).

Die Chromatogrammstreifen werden in eine Lösung von 0,5 g Phosphormolybdänsäure in 100 ml Wasser + 5 Tropfen Eisessig getaucht, 2 min mit Wasser gewaschen und durch Eintauchen in eine Lösung von 1 g $SnCl_2$ in 10 ml Eisessig + 90 ml Wasser reduziert.

Die Gefahr des Auswaschens ist geringer als bei 1., die Empfindlichkeit etwa die gleiche. Ammoniak reagiert ab 30 γ mit schwarzblauer Farbe.

c) Wismutsubnitrat. Das von R. MUNIER und M. MACHEBOEF (1951) zum Alkaloidnachweis empfohlene Reagens wird folgendermassen bereitet: Lösung I: 0,85 g Wismutsubnitrat, 40 ml Wasser, 10 ml Eisessig. Lösung II: 8 g KJ, 20 ml Wasser. Zum Gebrauch: 5 ml I, 5 ml II, 20 ml Eisessig, 100 ml Wasser.

Beim Besprühen geben tertiäre Amine und höhere sekundäre Amine (ab C_4) einen orangeroten Fleck auf gelbem Grunde. Der Nachweis bis zu 10 γ ist möglich.

Durch vorhergehende Jodbedampfung wird die Methode empfindlicher; das aufgedampfte Jod muß aber nahezu verflüchtigt sein. So gelingt der Nachweis bis herab zu 5 γ.

VII. Möglichkeiten und Grenzen des papierchromatographischen Nachweises

In Tabelle 1 und 2 sind zunächst die Ergebnisse zusammengestellt, die mit den vorstehend beschriebenen Methoden erhalten wurden.

Jeder, der papierchromatographisch gearbeitet hat, weiß, daß die R_f-Werte auch bei sorgfältigem Vorgehen von Versuch zu Versuch gewissen Schwankungen unterliegen. Sie ließen sich bei unseren Untersuchungen nur auf ± 5 reproduzieren. Diese Schwierigkeiten können bei

Bezugnahme auf eine Leitsubstanz (S) verringert werden. Der „R_s-Wert" zeigt dann wesentlich geringere Schwankungen.

Tabelle 1. *R_f- und R_s-Werte der Amine* (Laufmittel: Butanol—Wasser—Eisessig)

Laufmittel	B 40/W 50/E 10				B 50/W 49/E 1				Fleckennachweis Erfassungsgrenze (γ)
Papier	SS 2043 b Gl		SS 2043 b M		SS 2043 b Gl		SS 2043 b M		
Vorbehandlung mit Na-acetat	+		—		+		—		
	R_f	R_s	R_f	R_s	R_f	R_s	R_f	R_s	
Amin									
Methyl-	43	63	(30)	(47)	15	37	(10)	(22)	N 0,6
Dimethyl-	47	69	35	55	20	49	11	24	N 6, C 1, J 10, Np 2
Trimethyl-	(40)	(59)	32	50	(19)	(46)	10	22	N —, J 1, P 5
Aethyl-	57	84	(40)	(62)	25	61	(15)	33	N 0,6
Diaethyl-	(60)	(88)	45	70	(44)	(107)	25	54	N 10, J 5, Np 3
Triaethyl-	(67)	(99)	60	94	(43)	(105)	30	65	N —, J 2, P 5
n-Propyl-	68	100	(50)	(78)	41	100	(27)	(59)	N 0,6
i-Propyl-	66	97	(48)	(75)	39	98	(25)	(54)	N 5
Di-n-Propyl-	(82)	(121)	64	100	(50)	(122)	46	100	N 10, J 5, Np 2
Di-i-Propyl-	(80)	(118)	62	97	(49)	(120)	42	91	N 10, J 5, Np 3
i-Butyl-	75	110	(60)	(94)	55	134	(40)	(87)	N 0,6
n-Butyl-	77	113	(64)	(100)	57	140	(41)	(89)	N 0,6
sek.-Butyl-	74	109	—	—	53	129	—	—	N 15
Di-n-Butyl-	(96)	(141)	85	133	(82)	(200)	70	152	N 10—15, J 5, Np 2
Tri-n-Butyl-	(97)	(143)	90	140	(89)	(219)	80	174	N —, J 2, P 5
n-Amyl-	82	121	(73)	(114)	70	171	(54)	(117)	N 1
i-Amyl-	80	118	(71)	(111)	69	169	(53)	(115)	N 1
Di-n-Amyl-	(97)	(142)	92	144	(94)	(230)	85	185	N 10, J 5, Np 3
Di-i-Amyl-	(96)	(141)	88	138	(93)	(227)	78	170	N 10, J 5, Np 3
Tri-n-Amyl-	—	—	90	140	—	—	90	195	N —, J 2, P 5
n-Hexyl-	85	125	(77)	(120)	75	183	(65)	(141)	N 1
n-Heptyl-	86	126	(80)	(125)	77	188	(66)	(143)	N 1
n-Octyl-	87	128	(82)	(128)	83	201	(72)	(156)	N 1
n-Decyl-	89	131	(85)	(132)	85	208	(74)	(161)	N 1
Benzyl-	77	113	(62)	(97)	60	147	(43)	(93)	N 1 gelbrot
Tyramin	75	111	(62)	(97)	56	136	(40)	(87)	N 1 hellrot
Tryptamin	77	113	(65)	(101)	60	147	(45)	(98)	N 1 braunrot
β-Phenylaethyl-	80	118	(62)	(97)	66	160	(45)	(98)	N 1 graublau
Cadaverin	30	44	(10)	(15)	2	4	(1)	(2)	N 0,5 rotblau
Putrescin	27	40	(10)	(15)	1	2	(1)	(2)	N 0,5 rotblau
Allyl-	59	87	(42)	(65)	35	84	(20)	(43)	N 0,6 graublau
Histamin	30	44	42	65	5	12	1	2	N 1 braungrau
Aethanol-	40	59	(23)	(36)	10	24	(6)	(13)	N 1
Diaethanol-	—	—	30	47	(26)	(63)	10	22	N 30, J 8
Triaethanol-	—	—	29	45	—	—	9	19	N —, J 2, P 3
NH_3	40	59	—	—	8	19	—	—	N 10 weiß, J 10 grau

Die in ( ) gesetzten R_f- und R_s-Werte beziehen sich auf Amine, die bei dem betreffenden Papier und der betreffenden Entwicklungsart nur schlecht nachweisbar sind. Die Erfassungsgrenze bezieht sich auf γ Aminhydrochlorid.

Nachweisreaktionen: N: Ninhydrin (s. S. 296), J: Joddampf (s. S. 297), P: Phosphormolybdänsäure (s. S. 298), Np: Nitroprussidnatrium (s. S. 297), C: Chinon (s. S. 297).

Als Leitsubstanz wird am besten ein Amin genommen, das etwa in der Mitte des Chromatogramms liegt, also einen R_f-Wert um 50 besitzt. Diese Leitsubstanz muß selbstverständlich jedesmal mit der zu untersuchenden Aminlösung zugleich aufgetragen werden. Wir wählten für primäre Amine auf Na-Acetat-Papier n-Propylamin, für sekundäre und tertiäre Amine auf unvorbehandeltem Papier Di-n-propylamin. Beide Amine haben den Vorteil, daß sie in Pflanzendestillaten nur sehr selten oder überhaupt nicht auftreten.

Die R_s-Werte können natürlich leicht in die R_f-Werte umgerechnet werden und umgekehrt:

$$R_s = \frac{R_f}{R_{fs}}$$

$$R_f = R_{fs} \cdot R_s$$

wobei R_{fs} der R_f-Wert der Leitsubstanz ist.

Alle R_f- und R_s-Werte werden in dieser Arbeit *als ganze Zahlen* gegeben, also als Steighöhe in % der Höhe der Laufmittelfront.

Das vorgeschlagene Verfahren ist keineswegs neu. Es wurde z. B. (in Form des R_{ph}-Wertes) von A. KJAER und K. RUBENSTEIN (1953) bei der papierchromatographischen Trennung der Senföle, von R. KUHN und T. LÖWE (1954) für die Identifizierung von Alkaloiden der Solaninreihe angewandt.

Tabelle 2. *R_f-Werte einiger Amine*
(Laufmittel: Collidin—Wasser)

Laufmittel	Collidin/Wasser (50/50)	Flecken-nachweis Erfassungs-grenze (γ)
Papier	SS 2043 b Gl	
Vorbehandlung mit Na-acetat	—	
	R_f	
Benzylamin . . .	80	N 0,5
Tyramin	79	N 1
Tryptamin	80	N 1
β-Phenylaethylamin	77	N 0,5
Cadaverin	9	N 0,5
Putrescin	12	N 0,5
Histamin	46	N 1
Aethanolamin . .	35	N 1
Diaethanolamin . .	40	N 10
Triaethanolamin .	70	J 3
NH_3	40—50	N 3

Wie die Tabelle 1 zeigt und wie schon weiter oben (S. 294) angedeutet wurde, müssen für eine vollständige Analyse jeweils zwei Chromatogramme angefertigt werden. Bei dem einen wird Papier SS 2043 b Gl verwendet, welches mit *0,15 mol Natriumacetat imprägniert* wurde. Es ermöglicht den Nachweis der primären und sekundären Amine. Durch die Ninhydrinreaktion treten die ersten in purpurroter, die letzten in hellroter Farbe hervor. Das zweite Chromatogramm für den Nachweis der sekundären und tertiären Amine läuft auf unvorbehandeltem Papier SS 2043 b M. Zum Nachweis der Flecken dient die Joddampf-Reaktion, der gegebenenfalls weitere Spezialreaktionen folgen können (s. S. 297 f.).

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, zeigen die R_f-Werte gewisse Gesetzmäßigkeiten. Bei gleichem Alkylradikal steigt der R_f-Wert in der Reihenfolge Mono- < Di- < Triamin an. In der Reihe der Mono-, Di- und Triamine nimmt der R_f-Wert mit der Länge der Alkylreste zu, bei den niederen Homologen übrigens stärker als bei den höheren. n-Amine haben einen etwas höheren R_f-Wert als die entsprechenden i-Amine. Die Unterschiede reichen aber in diesem Fall zur sicheren Identifizierung nicht aus.

Die überraschende Angabe von W. Dihlmann (1954), daß Methylamin einen höheren R_f-Wert gibt als Dimethylamin (34 bzw. 28), mag vielleicht in der andersartigen Papiersorte (Gessner und Kreuzig WF 1) eine Erklärung finden. Die Zusammensetzung der mobilen Phase (n-Butanol/Eisessig/Wasser, 4/1/5) war die gleiche wie bei uns.

Ammoniak gibt auf vorbehandeltem Papier ab 30 γ bei der Ninhydrinreaktion einen weißen Fleck mit rosa Hof; mit Jod hingegen gibt es auf unvorbehandeltem Papier ab 6 γ einen grauen Fleck. Mit Nesslers Reagens können auf beiden Papieren bis 3 γ gut nachgewiesen werden: es bildet sich ein brauner Fleck, der bald verblaßt. In Collidinchromatogrammen dagegen erscheint NH_3 bei Ninhydrinbehandlung ab 4 γ als blauer Fleck.

C. Mikrochemische Identifizierung

Wie aus dem vorangehenden Abschnitt, insbesondere aus Tabelle 1, hervorgeht, ist eine sichere Erkennung aller in Frage kommenden Amine mit alleiniger Hilfe der Papierchromatographie nicht möglich. Die zur sicheren Trennung zweier Substanzen notwendige Differenz der R_f-Werte von etwa 4 wird nicht immer erreicht. Es mußten deshalb andere Verfahren der mikrochemischen Identifizierung herangezogen werden, die im übrigen auch zur Überprüfung und Sicherung papierchromatographischer Befunde von großem Wert sind. Für den genannten Zweck erwiesen sich in fast allen Fällen die bereits von G. Klein und M. Steiner (1928), M. Steiner (1929) und M. Steiner und H. Löffler (1929) empfohlenen Verbindungen des 2,4-Dinitro-α-naphthols als brauchbar und ausreichend.

Sämtliche Angaben der genannten Autoren wurden nochmals überprüft. Das schien aus mehrfachen Gründen notwendig: Erstens, weil damals nicht alle uns zur Verfügung stehenden Amine untersucht wurden; zweitens, weil sich schon nach den ersten Vorversuchen herausstellte, daß die Kristallform der Dinitro-α-naphtholate gewisse Modifikationen erfahren kann, wenn die Amine aus dem Chromatogrammfleck freigemacht werden (s. u.); drittens, weil die oben genannten Untersucher für die Ermittlung der Schmelzpunkte eine noch unvollkommene Apparatur verwandt haben — es war eine der ersten Arbeiten, welche überhaupt die Mikroschmelzpunkt-Bestimmung anwandte — und deswegen eine neuerliche Bestimmung mit dem heute allgemein

eingeführten KOFLER-Block (L. KOFLER und H. HILBCK, 1931, A. und L. KOFLER, 1954) wünschenswert erschien.

Die untersuchten Amine wurden zunächst chromatographiert. Die Lage des Flecks wurde durch ein mit Sprühreagens sichtbar gemachtes Parallel-Chromatogramm festgestellt. Die betreffende Partie des Papierstreifens wurde ausgeschnitten und in ein kleines, oben plangeschliffenes Glasröhrchen (3,5 cm hoch, 1 cm Öffnungsdurchmesser) gegeben und mit einigen Tropfen 5 n NaOH versetzt. Das Röhrchen wurde mit einem Deckgläschen bedeckt, das auf der Unterseite einen Tropfen destillierten Wassers mit einigen Kriställchen von 2,4-Dinitro-α-naphthol trug. Nach ungefähr 12 Std war der Wassertropfen verdunstet und das Reaktionsprodukt gebildet. Es ist darauf zu achten, daß durch langsames Verdunsten des Wassers wohlausgebildete Kristalle erhalten werden und daß womöglich kein überschüssiges Reagens zurückbleibt.

Von großem diagnostischem Wert sind (vgl. G. KLEIN und M. STEINER, 1928) die Sublimationsprodukte der Dinitro-α-naphthol-verbindungen. Zur Mikrosublimation wurde das Schmelzpunkts-Mikroskop nach KOFLER (C. REICHERT, Wien) verwendet. Das Deckglas mit der zu untersuchenden Substanz wird mit der Kristallseite nach oben auf einen Objektträger (38 × 26 mm) gelegt und darauf ein zweites Deckgläschen, welches durch einige Deckglassplitterchen an den Ecken gestützt wird. Das Ganze kommt auf den Heiztisch des Schmelzpunktmikroskops. Der Vorwiderstand wird auf 150° eingestellt und die Temperatur bis 120° steigen gelassen. Dabei wird offen, also ohne Glasbrücke und Deckplatte, beobachtet. Die Sublimation beginnt in der Regel um 100°. Sind 120° erreicht, wird die Heizung abgeschaltet. Auf dem Deckglas liegen nun entweder die Kristalle des Sublimates oder Tröpfchen, die beim Abkühlen (um 60°) zu Kristallen erstarren.

Sowohl bei den ursprünglich erhaltenen Kristallen wie beim Sublimat wurden Kristallform und -farbe, Dichroismus und Auslöschungsrichtung bestimmt.

Zur Bestimmung des Schmelzpunktes wurde das Deckglas mit dem Kristallprodukt nach unten auf einen Objektträger aufgelegt und auf den Heiztisch des KOFLER-Mikroskops gebracht und mit Glasbrücke und Deckplatte bedeckt. Die Schmelzpunktsbestimmung geschah nach den bei A. und L. KOFLER gegebenen Anweisungen. In den meisten Fällen schmolzen die Kristalle innerhalb eines Temperaturintervalls von 2—3°. Besonderheiten sind weiter unten vermerkt.

Die nachfolgenden Angaben können selbstverständlich nur kurze Anhaltspunkte geben. Bei einschlägigen Untersuchungen wird es sich

in allen Zweifelsfällen empfehlen, Vergleichspräparate mit reiner Substanz herzustellen[1].

2,4-Dinitro-α-naphthol-(DNN-)Verbindungen der Amine

1. Reagens. Blaßgelbe, schwach dichroitische langgestreckte Prismen, schiefe Auslöschung (20°), Fp 125° (Abb. 1). Sublimat (ab 100°): blaßgelbe, langgestreckte Platten mit schiefen Enden, schwacher Dichroismus, schiefe Auslöschung (20°) (Abb. 2).

2. Ammoniak. Rotbraune, dünne, fast fädige Nadeln mit spitzen Enden, schwacher Dichroismus und schiefe (20°) Auslöschung. Fp 174° (Abb. 3). Sublimat (ab 100°): dunkelgelbe dünne Prismen oder Nadeln mit unregelmäßigen Enden, schiefer (~16°) Auslöschung und starkem Dichroismus (Abb. 4).

3. Methylamin. Gelbe, lange, gebogene Nadeln mit stumpfen Enden; Auslöschung 45°; Dichroismus sattgelb-braun. Fp 166° (Abb. 5). Sublimat (ab 100°): sattgelbe bis braungelbe Nadeln und Prismen mit unregelmäßigem Ende, Auslöschung 45°, Dichroismus schwach (Abb. 6).

4. Dimethylamin. Tiefbraungelbe Rhomben, Prismen und Platten mit stumpfen Enden, Auslöschung 24°, Dichroismus braun-gelb (Abb. 7, 8). Fp 171°. Sublimat (ab 100°): dunkelcitrongelbe viereckige Tafeln und Rhomben mit stumpfen Enden; Auslöschung 45°; starker Dichroismus citrongelb-braunrot (Abb. 9).

5. Trimethylamin. Schmale hellcitrongelbe Prismen mit stumpfen Enden; Auslöschung 20°; schwacher Dichroismus blaßgelb-messinggelb. Fp 166° (Abb. 10). Sublimat (ab 100°): beinahe rechtwinklige sattcitrongelbe Täfelchen; gerade Auslöschung; schwacher Dichroismus (Abb. 11).

6. Aethylamin. Sattgelbe, stumpfe, sechsseitige Prismen, Platten, Rhomben; Auslöschung 46°; starker Dichroismus citrongelb-braun. Fp 156° (Abb. 12, 13). Sublimat (ab 100°): sattgelbe, kurze, stumpfe Prismen; Auslöschung 42°; schwacher Dichroismus (Abb. 14).

7. Diaethylamin. Braungelbe, stumpfe Prismen und Platten; Auslöschung 46°; starker Dichroismus rotgelb-braun. Fp 125°. Sublimat (ab 110°): hellgelbe, vier- bis vieleckige Platten mit strahliger Struktur; Auslöschung 42°; starker Dichroismus hellgelb-gelborange.

8. Triaethylamin. Hellgelbe, stumpfe, häufig gebogene Prismennadeln; Auslöschung 34°; schwacher Dichroismus. Fp 87°. Sublimat: — (keine Sublimation).

9. n-Propylamin. Hellcitrongelbe stumpfe Nadeln (in Büscheln), Prismen und Rhomben; Auslöschung 30°; schwacher Dichroismus. Fp 156° (Abb. 15, 16). Sublimat (ab 100°); hellcitrongelbe stumpfe Nadeln und Plättchen; Auslöschung 45°; kaum dichroitisch (Abb. 17).

10. i-Propylamin. Goldgelbe Prismennadeln und Rhomben mit spitzen Enden; Auslöschung 30°; starker Dichroismus citrongelb-hellbraun; Fp 135° (unscharf), nach Sublimation zweiter Fp bei 152° (unscharf) (Abb. 18). Sublimat (ab 100°): blaßgelbe stumpfe Nadeln und hellgelbe plattige Prismen; Auslöschung 45°; schwacher Dichroismus (Abb. 19).

11. Allylamin. Dunkelgelbe bis rotbraune Prismennadeln mit schräger Endigung; Auslöschung 16°; kein Dichroismus. Fp 138° (Abb. 20). Sublimat (ab 115°): kleine citrongelbe Rhomben und Prismen; Auslöschung gerade oder fast gerade (±6°); kein Dichroismus (Abb. 21).

[1] In Abb. 1—31 sind die DNN-Verbindungen derjenigen flüchtigen Amine dargestellt, welche bisher im Pflanzenreich gefunden wurden. Auf die Wiedergabe der Bilder für die übrigen Amine wurde mit Rücksicht auf den zur Verfügung stehenden Raum verzichtet.

Abb. 1. 2,4-Dinitro-α-Naphthol (DNN, Reagens)

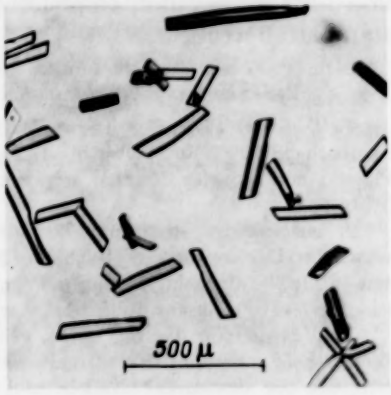


Abb. 2. Wie Abb. 1, sublimiert

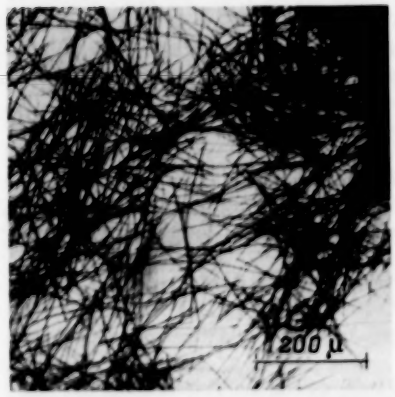


Abb. 3. Ammoniak, DNN-Verbindung

Abb. 4. Wie Abb. 3, sublimiert

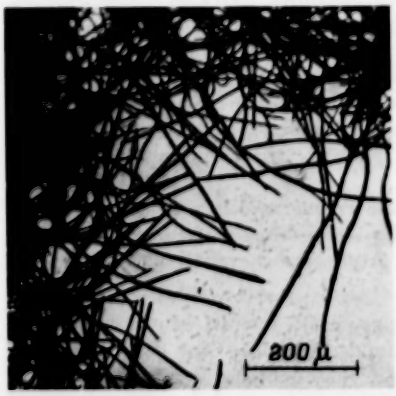


Abb. 5. Methylamin, DNN-Verbindung

Abb. 6. Wie Abb. 5, sublimiert

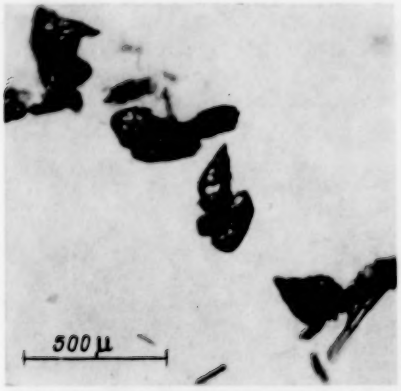


Abb. 7. Dimethylamin, DNN-Verbindung

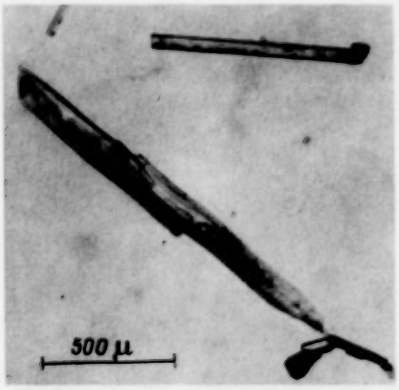


Abb. 8. Wie Abb. 7, anderes Präparat

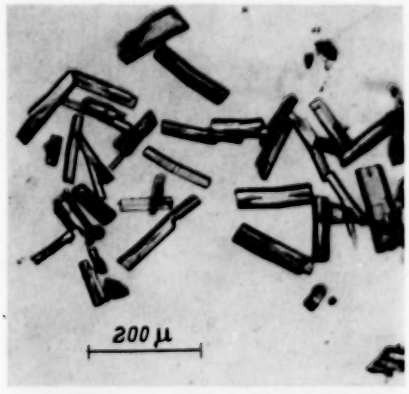


Abb. 9. Wie Abb. 7 und 8, sublimiert

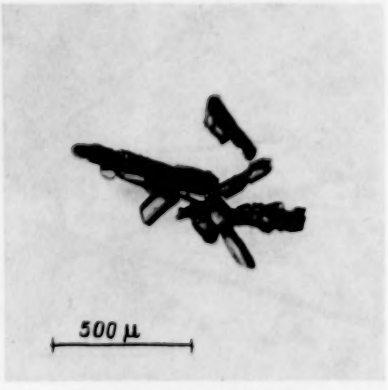


Abb. 10. Trimethylamin, DNN-Verbindung

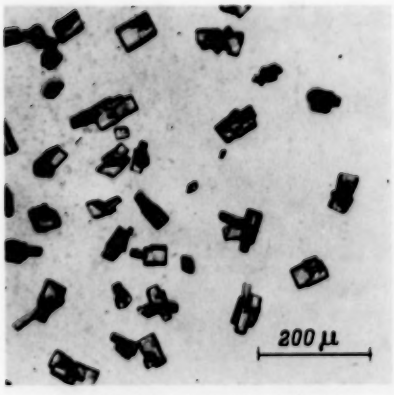


Abb. 11. Wie Abb. 10, sublimiert

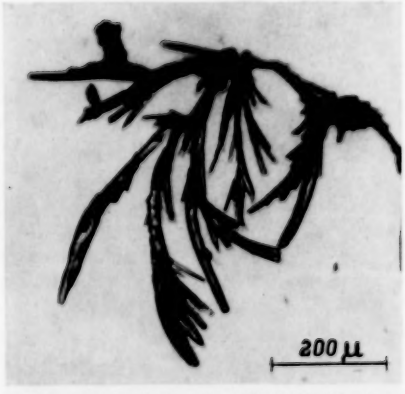


Abb. 12. Aethylamin, DNN-Verbindung

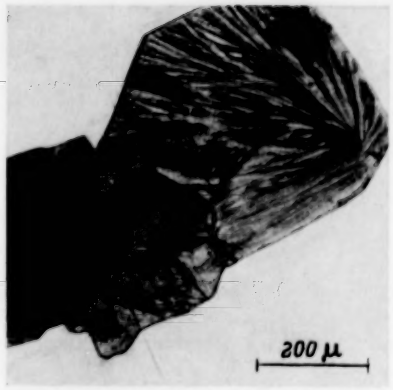


Abb. 13. Wie Abb. 12, anderes Präparat

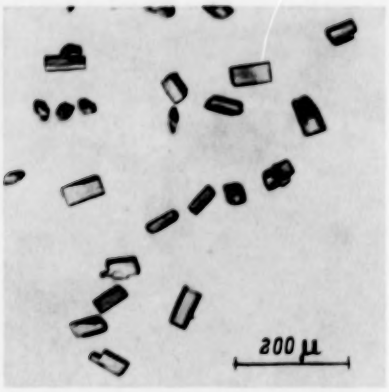


Abb. 14. Wie Abb. 12 und 13, sublimiert

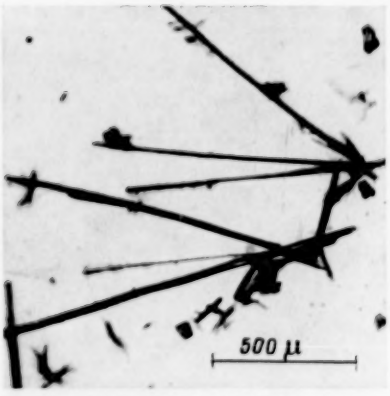


Abb. 15. n-Propylamin, DNN-Verbindung

Abb. 16. Wie Abb. 15, anderes Präparat

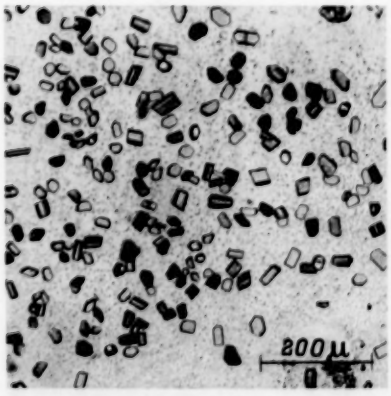


Abb. 17. Wie Abb. 15 und 16, sublimiert

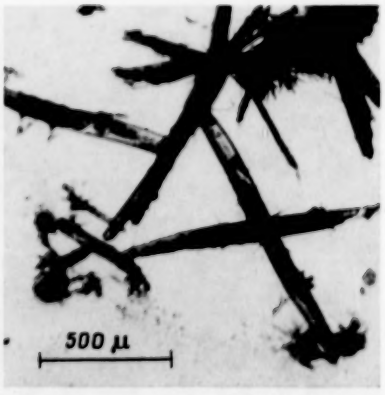


Abb. 18. i-Propylamin, DNN-Verbindung

Abb. 19. Wie Abb. 18, sublimiert

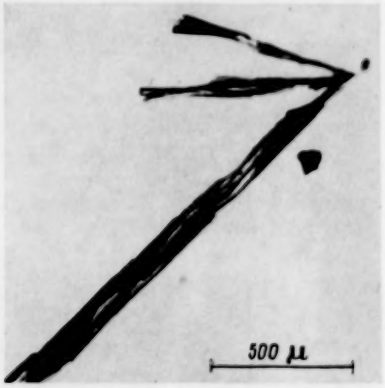


Abb. 20. Allylamin, DNN-Verbindung

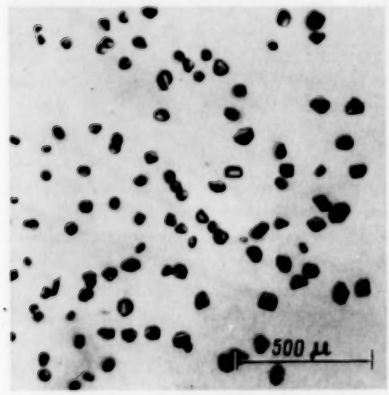


Abb. 21. Wie Abb. 20, sublimiert

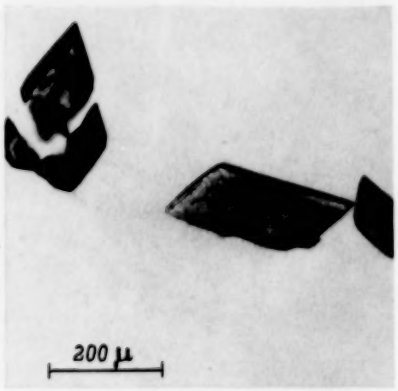


Abb. 22. i-Butylamin, DNN-Verbindung

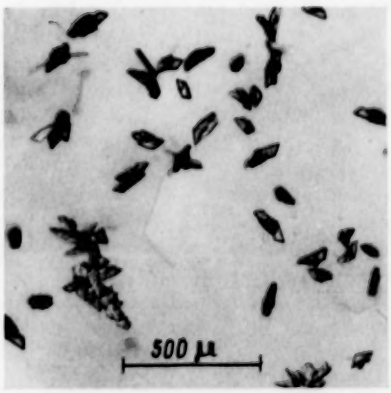


Abb. 23. Wie Abb. 22, sublimiert

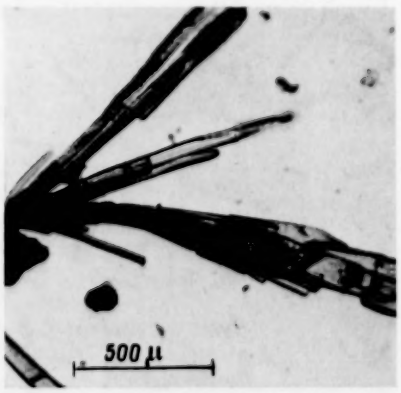


Abb. 24. i-Amylamin, DNN-Verbindung

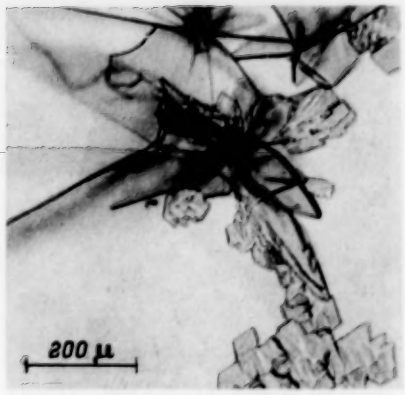


Abb. 25. Wie Abb. 24, sublimiert

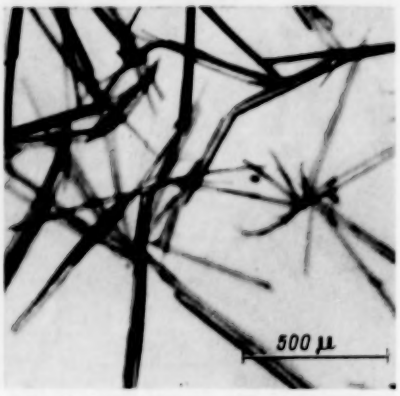


Abb. 26. n-Hexylamin, DNN-Verbindung

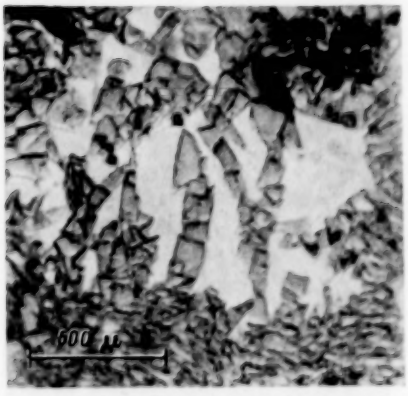


Abb. 27. Wie Abb. 26, sublimiert

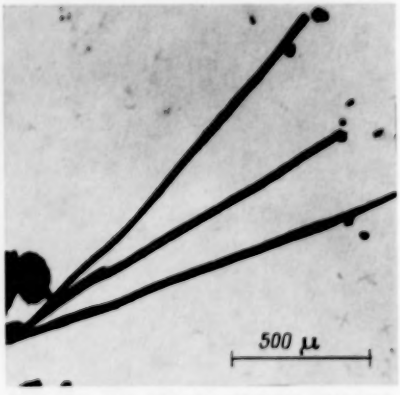


Abb. 28. Benzylamin, DNN-Verbindung

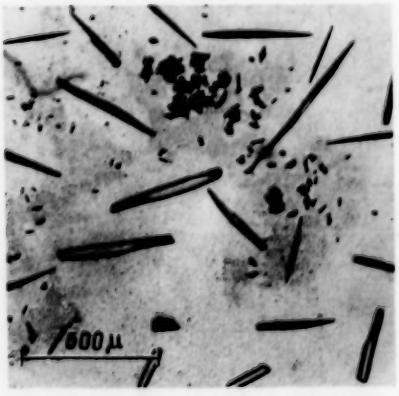


Abb. 29. Wie Abb. 28, sublimiert

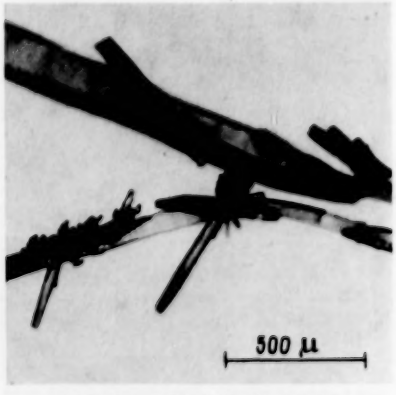


Abb. 30. β-Phenylaethylamin, DNN-Verbindung

12. Di-n-Propylamin. Sattcitrongelbe, kurze spitze Rhomben; Auslöschung 32°; starker Dichroismus citrongelb-hellbraun. Fp 128°. Sublimat (ab 100°): dunkelgelbe lange, längsrissige Platten mit unregelmäßigen Enden; Auslöschung 43°; starker Dichroismus hellgelb-dunkelgelb.

13. Di-i-Propylamin. Citrongelbe, kurze stumpfe Rhomben; Auslöschung 36°; starker Dichroismus citrongelb-braungelb. Fp 166°. Sublimat (ab 120°, unter teilweiser Zersetzung): hellgelbe, spitze Prismen und Nädelchen; Auslöschung 26°; schwacher Dichroismus.

14. n-Butylamin. Hellgelbe, dünne, lange, gekrümmte Nadeln mit schrägem Ende; Auslöschung 25°; kaum dichroitisch. Fp 138°. Sublimat (ab 100°): hellgelbe rhombische und rechteckige Platten mit oft unregelmäßiger Endigung; Auslöschung 23°; schwacher Dichroismus.

15. i-Butylamin. Sattgelbe Rhomben, hellgelbe Platten und stumpfe Prismen; Auslöschung (Rhomben) 12°; starker Dichroismus citrongelb-hellbraun. Fp. 150° (Abb. 22). Sublimat (ab 100°): hellgelbe, wohlausgebildete Rhomben und Platten mit meist unregelmäßigen Enden; Auslöschung 22°; starker Dichroismus goldgelbbraun (Abb. 23).

16. Sek. Butylamin, (1-Aethyl-aethylamin). Hellgelbe Prismennadeln mit unregelmäßigem Ende; Auslöschung 20°; starker Dichroismus messinggelb-dunkelgelb. Fp. 145°. Sublimat (ab 120°): breite, messinggelbe Platten; gerade Auslöschung; schwacher Dichroismus.

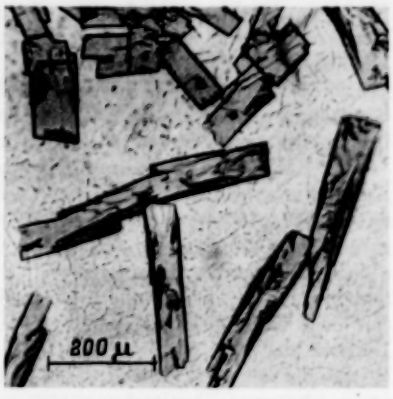


Abb. 31. Wie Abb. 30, sublimiert

17. Di-n-Butylamin. Citrongelbe, dicke, stumpfe Prismen und Rhomben; Auslöschung 45°; starker Dichroismus citrongelb-braungelb. Fp. 144°. Sublimat (ab 115°): Aggregate von dunkelgelben viereckigen Platten; Auslöschung 0—10°; sehr starker Dichroismus hellmessinggelb-rotgelb.

18. Tri-n-Butylamin. Sattcitrongelbe, dicke, stumpfe, rhombische Prismen; Auslöschung 42°; starker Dichroismus citrongelb-braungelb. Fp. 147°. Sublimat (ab 110°): kleine, tiefcitrongelbe Plättchen in langen, garbenförmigen Aggregaten mit vielen Querrissen; Auslöschung 45°; starker Dichroismus gelblichweiß-dunkelgelb.

19. n-Amylamin. Hellcitrongelbe, schief endigende Nadeln und Platten; gerade Auslöschung; sehr schwacher Dichroismus. Fp. 141°. Sublimat (ab 110°): hellgelbe, breite, fast rechteckige Platten in größeren Verbänden; Auslöschung 23°; sehr schwacher Dichroismus.

20. i-Amylamin. Sattgelbe Nadeln und Prismen mit scharf meißelförmigem Ende; Auslöschung 20°; sehr schwacher Dichroismus. Fp. 156° (Abb. 24). Sublimat (ab 120°): flache, unregelmäßig endigende, sattcitrongelbe, rhombische Platten; Auslöschung 25°; kaum dichroitisch (Abb. 25).

21. Di-n-Amylamin. Hellgelbe, dünne, spitz endigende Nadeln; Auslöschung 40°; sehr schwacher Dichroismus. Fp. 105°. Sublimat (ab 80°): dünne, hellgelbe Platten in garbenförmigen Verbänden; gerade Auslöschung; starker Dichroismus hellgelb-dunkelgelb.

22. Di-i-Amylamin. Gelbe Prismennadeln mit meißelförmigem Ende; Auslöschung 35°; starker Dichroismus hellgelb-dunkelgelb. Fp. 156°. Sublimat

(ab 100°): hellgelbe, dünne Platten in garbenförmigen Verbänden; gerade Auslöschung; starker Dichroismus citrongelb-dunkelgelb.

23. Tri-n-Amylamin. Gelbe, gebündelte Prismennadeln mit unregelmäßigem Ende; Auslöschung 40°; schwacher Dichroismus. Fp. 132°. Sublimat (ab 100°): messinggelbe, dachziegelartig vereinigte Plättchen; Auslöschung 0—10°; starker Dichroismus citrongelb-dunkelgelb.

24. n-Hexylamin. Citrongelbe, lange, dünne Prismennadeln mit meißelartig abgeschrägtem Ende; Auslöschung 40°; schwacher Dichroismus. Fp. 150° (Abb. 26). Sublimat (ab 110°): Zu langen Bändern vereinigte, unregelmäßig viereckige, citrongelbe Plättchen; Auslöschung 16—20°; sehr schwacher Dichroismus (Abb. 27).

25. n-Heptylamin. Hellmessinggelbe, lange Prismennadeln mit meißelförmigem Ende; Auslöschung gerade; kein Dichroismus. Fp. 152°. Sublimat (ab 100°: in Farbe und Form sehr ähnlich n-Hexylamin; Auslöschung 30°; sehr schwacher Dichroismus.

26. n-Octylamin. Hellmessinggelbe, plattige Prismen in rankenförmigen Verbänden; Auslöschung 25°; kein Dichroismus. Fp. 151°. Sublimat (ab 100°): breite, citrongelbe Platten; Auslöschung 25—27°; sehr schwacher Dichroismus.

27. n-Decylamin. Hellmessinggelbe Platten und gekrümmte Nadeln; gerade Auslöschung; schwach dichroitisch. Fp. 148°. Sublimat (ab 100°): dünne, hellcitrongelbe Plättchen, zu einer fast zusammenhängenden Kristallkruste vereinigt; gerade Auslöschung; sehr schwacher Dichroismus.

28. Benzylamin. Braune, sphaeritisch vereinigte Nädelchen und längere Prismennadeln; gerade Auslöschung; starker Dichroismus gelb-braun, Fp. 155° (Abb. 28). Sublimat (ab 100°): blaßgelbe, spitze Nadeln; Auslöschung 13—15°; schwacher Dichroismus (Abb. 29).

29. β-Phenylaethylamin. Hellcitrongelbe Prismen und Nadeln, oft hobelspanartig gekrümmt; Auslöschung 18°; schwacher Dichroismus. Fp. 171° (Abb. 30). Sublimat (ab 120°): breite, hellcitrongelbe Platten; Auslöschung 35°; starker Dichroismus blaßgelb-sattgelb (Abb. 31).

D. Die Flüchtigkeit der Amine bei Wasserdampfdestillation

Da die Abtrennung der Amine aus dem Pflanzenmaterial durch alkalische Wasserdampfdestillation beabsichtigt war, mußten Vorversuche über die Flüchtigkeit der Amine bei diesem Verfahren angestellt werden. Die Literatur (z. B. BEILSTEIN) enthält darüber nur unvollständige Angaben; zumeist wird nur der Siedepunkt des Amins aufgeführt.

Es wurden je 0,2 g Aminhydrochlorid in der weiter unten beschriebenen Weise aus alkalischem Medium in eine mit 0,1 N HCl beschickte Vorlage 15 min lang destilliert. Dann wurden die Vorlage und der angesäuerte Destillationsrückstand eingeengt. Beide Proben wurden papierchromatographisch analysiert.

Es wurde festgestellt, daß alle primären, sekundären und tertiären aliphatischen Amine unter den Versuchsbedingungen annähernd quantitativ übergehen. In den weitaus meisten Fällen war im Destillationsrückstand überhaupt kein Amin mehr nachweisbar, bei n-Hexyl- und n-Heptylamin noch Spuren, bei n-Octyl- und Tri-n-Butylamin ca. 5%, bei n-Decylamin etwa 10% der eingesetzten Menge.

Aethanolamin war zu etwa 20% in der Vorlage zu finden, Diaethanol- und Triaethanolamin überhaupt nicht.

Die Diamine — Cadaverin und Putrescin — fanden sich nur zu 10% im Destillat.

Von den cyclischen Aminen destillierten Benzyl- und Phenylaethylamin fast quantitativ über (95 bzw. 90%), überhaupt nicht Tyramin, Histamin und Tryptamin.

An den negativen Resultaten ändert sich kaum etwas, wenn die übliche Destillationszeit auf das 3—4fache verlängert wird.

Es ergibt sich also, daß in den Destillaten des Pflanzenmaterials *alle aliphatischen Amine* sowie *Benzyl-* und *β-Phenylaethylamin* zu erwarten sind, *nicht* oder nur in Spuren die *Aethanolamine*, *Cadaverin*, *Putrescin*, *Tyramin*, *Histamin* und *Tryptamin*.

E. Die Identifizierung der einzelnen Amine

Durch Kombination der oben beschriebenen Methoden können fast alle in die Untersuchung einbezogenen Amine eindeutig bestimmt werden. Am einfachsten sind die Fälle, in denen nur ein Amin oder einige, im R_f-Wert stark unterschiedene Amine vorkommen. Aber auch in ungünstigen Fällen erwies sich die Aufklärung der Komponenten eines Amingemisches durch Kombination der papierchromatischen Trennung und der mikrochemischen und mikrophysikalischen Identifizierung als durchaus möglich. Nur in einigen Sonderfällen war die Heranziehung weiterer Erkennungsmerkmale notwendig (vgl. E. Stein v. Kamienski 1958).

Die nachfolgende Zusammenstellung gibt für jedes der untersuchten Amine Hinweise zur Identifizierung.

1. Methylamin. Chromatographisch schwer von NH_3 und Dimethylamin zu trennen. Von diesem durch die negative Chinonreaktion unterschieden. Die DNN-Verbindung bildet — im Gegensatz zu NH_3 — stark dichroitische Kristalle.

2. Dimethylamin. Liegt im Chromatogramm nahe bei Methyl- und Trimethylamin. Dimethylamin allein gibt aber die Chinonreaktion, Trimethylamin eine dunklere Jodreaktion.

3. Trimethylamin. Siehe bei 1. und 2. Die DNN-Verbindung liefert bei Gegenwart von NH_3 mehr plattige Kristallformen, die aber nach Sublimation durch den schwachen Dichroismus zu erkennen sind.

4. Aethylamin. Im Chromatogramm durch kein anderes Amin gestört. Sehr charakteristische DNN-Verbindung.

5. Diaethylamin. Liegt im Chromatogramm sehr nahe dem Triaethylamin, ist aber von diesem durch die positive, empfindliche Reaktion mit Nitroprussidnatrium unterschieden. Die DNN-Verbindung ist stark dichroitisch.

6. Triaethylamin (siehe 5).

7. n-Propylamin. Ist von i-Propylamin im Chromatogramm nicht zu trennen. Die Kristalle der DNN-Verbindung sind aber durch gutes Sublimationsvermögen und durch starken Dichroismus von denen der i-Propylaminverbindung zu unterscheiden. Liegen n- und i-Propylamin nebeneinander vor, so bilden sich

Mischkristalle. Über die Identifizierungsmöglichkeit in diesem Falle vgl. E. STEIN v. KAMIENSKI 1958.

8. i-Propylamin (s. a. 7). Dieses Amin fällt durch seine Eigenschaften aus der Reihe. Die Ninhydrinreaktion ist wesentlich weniger empfindlich (5 γ) als bei den übrigen Monoaminen ($\sim$0,6 γ). Die DNN-Verbindung liefert bei der Sublimation zwei Kristallformen: Gelbe Platten und fast farblose Nadeln. Bald kommen beide Kristallformen vor, bald nur die eine oder andere. Gelegentlich wurde Umlagerung der Platten in die Nadeln beobachtet. Es scheint, daß jene eine unstabile Form darstellen. Das unsublimierte Kristallprodukt schmilzt sehr unscharf bei 135°, nach der Sublimation wird ein zweiter, gleichfalls unscharfer Fp. bei 152° beobachtet.

9. Di-n-Propylamin überdeckt sich im Chromatogramm mit Di-i-Propylamin. Die DNN-Verbindung der ersteren hat aber einen wesentlich höheren Schmelzpunkt. Liegen beide Isomere gleichzeitig vor, so bilden sich keine Mischkristalle. Man findet getrennte Schmelzpunkte.

10. Di-i-Propylamin siehe 9.

11. n-Butylamin ist im Chromatogramm nicht von i-Butylamin zu trennen. Die DNN-Verbindung hat aber einen schwachen Dichroismus. Tyramin, Benzylamin und Tryptamin haben etwa den gleichen R_f-Wert. Sie erscheinen aber im Gegensatz zu Butylamin auch im Collidin-Chromatogramm. Sie geben außerdem andere Färbungen mit Ninhydrin.

12. i-Butylamin (siehe 11).

13. sek. Butylamin ist durch die geringe Empfindlichkeit gegenüber der Ninhydrinreaktion und durch die DNN-Verbindung gegenüber allen anderen Aminen unterschieden, die im gleichen Chromatogrammbereich liegen.

14. Di-n-Butylamin liegt im Chromatogramm nahe dem n-Octyl- und n-Decylamin. Zur Unterscheidung gegenüber diesen dient die positive Nitroprussidreaktion und die DNN-Verbindung.

15. Tri-n-Butylamin wird im Chromatogramm durch kein anderes Amin gestört.

16. n-Amylamin ist im Chromatogramm von β-Phenylaethylamin nur schwer, von i-Amylamin gar nicht zu trennen. Ersteres erscheint aber im Collidin-Chromatogramm. Letzteres ist vom n-Amylamin durch den hohen Schmelzpunkt der DNN-Verbindung (156° gegenüber 141°) unterschieden. In Gemischen beider Amine bilden die Dinitro-α-Naphtholate keine Mischkristalle. Die Kristallprodukte schmelzen nacheinander.

17. i-Amylamin (siehe 16).

18. Di-n-Amylamin ist im Chromatogramm von der i-Verbindung kaum zu trennen. Die DNN-Verbindung hat aber einen wesentlich tieferen Schmelzpunkt.

19. Di-i-Amylamin (siehe 18).

20. Tri-n-Amylamin wird im Chromatogramm n-Butanol/Wasser/Eisessig, 50/49/1 durch kein anderes Amin gestört.

21. n-Hexylamin ist im Chromatogramm von n-Heptylamin nicht zu trennen. Auch die Kristalle der DNN-Verbindung unterscheiden sich im Schmelzpunkt und den übrigen Eigenschaften nur wenig. Eine sichere Identifizierung ist nur über die Pikrolonate möglich: Fp. für die n-Hexylamine 188°, für n-Heptylamin 162°. Auch die Eutektika der Pikrolonate mit Benzanilid und mit Salophen liefern gute Unterscheidungsmerkmale (vgl. E. STEIN v. KAMIENSKI 1958.)

22. n-Heptylamin (siehe 21).

23. n-Octylamin liegt im Chromatogramm sehr nahe dem n-Decylamin, unterscheidet sich von diesem aber durch die Form und die leichtere Sublimierbarkeit der DNN-Verbindung.

24. n-Decylamin (siehe 23).

25. Allylamin wird im Chromatogramm von keinem anderen Amin gestört und gibt abweichend von anderen auf Na-Acetatpapier mit Ninhydrin eine graue Reaktionsfarbe. Charakteristische DNN-Verbindung.

26. Cadaverin und

27. Putrescin kommen im Gegensatz zu den aliphatischen Aminen im Collidin-Chromatogramm vor. Sie sind mit Wasserdampf kaum flüchtig und bilden im Hängetropfen keine DNN-Verbindung. Untereinander sind die beiden Basen durch eine genügende Differenz der R_f-Werte unterschieden.

28. Aethanolamin liegt im Chromatogramm fast am gleichen Ort wie Methylamin, taucht im Gegensatz zu diesem aber auch im Collidin-Chromatogramm auf. Mit Wasserdampf kaum flüchtig, keine Reaktion mit DNN im Hängetropfen.

29. Diaethanolamin und

30. Triaethanolamin sind durch die R_f-Werte im Collidin-Chromatogramm gekennzeichnet. Mit Wasserdampf nicht destillierbar, keine DNN-Reaktion im Hängetropfen.

31. Benzylamin ist von allen aliphatischen Aminen durch das Auftreten im Collidin-Chromatogramm, von den übrigen cyclischen Aminen durch die gelbrote Ninhydrinreaktion unterschieden. Gut charakterisierte DNN-Verbindung.

32. β-Phenylaethylamin liegt im Butanol-Wasser-Eisessig-Chromatogramm nahe bei den Amylaminen, gibt aber (im Gegensatz zu diesen) einen Fleck im Collidin-Chromatogramm. Graublaue Farbe mit Ninhydrin, gut kenntliches Reaktionsprodukt mit DNN.

33. Tyramin, von den im Butanol-Wasser-Eisessig-Chromatogramm benachbarten Alkylaminen durch das Auftreten im Collidin-Chromatogramm unterschieden. Mit Wasserdampf nicht flüchtig (Unterschied gegen Benzylamin).

34. Tryptamin hat einen ähnlichen R_f-Wert wie Tyramin, ist aber durch braunrote Reaktionsfarbe mit Ninhydrin von der hellroten des Tyramins unterschieden. Mit Wasserdampf nicht flüchtig, keine Verbindung mit DNN im Hängetropfen.

35. Histamin gibt auf Natriumacetatpapier eine bräunlich graue Färbung mit Ninhydrin. Mit Wasserdampf nicht flüchtig, keine Verbindung mit DNN im Hängetropfen.

Zusammenfassung

1. Zur Trennung und zum Nachweis der flüchtigen Amine wurde ein papierchromatographisches Verfahren entwickelt.

2. Für primäre Amine ist ein Papier besonders geeignet, das mit 0,15 molarem Na-Acetat imprägniert ist. Sekundäre und tertiäre Amine dagegen werden besser auf unvorbehandeltem Papier getrennt.

3. Als Laufmittel werden n-Butanol/Wasser/Eisessig-Gemische (50/49/1 und 40/50/10) empfohlen. Collidin/Wasser (50/50) ist für die Differenzierung der cyclischen Amine und der aliphatischen Diamine und Alkanolamine von den aliphatischen Monoaminen zu verwenden.

4. Als Farbreagentien zur Sichtbarmachung der Flecken auf dem Chromatogramm haben sich bewährt:

a) Ninhydrin für primäre Amine

b) Nitroprussidnatrium für sekundäre Amine

c) Joddampf und Phosphormolybdänsäure für tertiäre Amine.

5. Die Nachweisgrenzen liegen für primäre Amine bei 0,6 γ, für sekundäre bei 2 γ und für tertiäre Amine bei 3 γ.

6. Zur Kontrolle der papierchromatographischen Methode und zu ihrer Ergänzung diente das zweckentsprechend weiter entwickelte Identifizierungsverfahren über die 2,4-Dinitro-α-naphthol-Salze der Amine.

7. Es wurde die Flüchtigkeit der Amine bei Wasserdampfdestillation aus alkalischem Medium geprüft. Es zeigte sich, daß die aliphatischen Monoamine bis C_{10}, β-Phenylaethylamin und Benzylamin, nicht aber die anderen cyclischen Amine, die aliphatischen Diamine und Alkanolamine ins Destillat übergehen.

Literatur

Baker, W., J. B. Harborne and W. D. Ollis: J. Chem.-Soc. (Lond.) **1952**, 1294, 3215. — Barakat, G., and G. Mousa: J. of Pharmacy a. Pharmacol. **4**, 115 (1952). — Block, R.: Paperchromatography. New York 1952. — Brante, G.: Nature (Lond.) **163**, 651 (1949). — Bremner, J. M., and C. Kenten: Biochemic. J. **49**, 651 (1951). — Chargaff, E., C. Levin and C. Green: J. of Biol. Chem. **175**, 67 (1948). — Consden, R., A. Gordon and H. Martin: Biochemic. J. **38**, 224 (1944). — Cramer, F.: Papierchromatographie, 3. Aufl. Weinheim 1953. — Cromwell, B. T.: Biochemic. J. **46**, 578 (1950). — Dihlmann, W.: Naturwiss. **40**, 342 (1953). — Biochem. Z. **325**, 295 (1954). — Feigl, F.: Spot Tests. New York 1954. — Feigl, F., u. V. Anger: Z. analyt. Chem. **115**, 449 (1939). — Fisher, R. B.: Nature (Lond.) **164**, 183 (1949). — Giri, K. V., u. A. Nagabhushanam: Naturwiss. **39**, 548 (1952). — Guggenheim, M.: Die biogenen Amine. Basel 1951. — Hellmann, H.: Z. physiol. Chem. **288**, 595 (1951). — Klein, G., u. M. Steiner: Jb. wiss. Bot. **68**, 602 (1928). — Kofler, L. u. A.: Thermo-mikro-methoden zur Kennzeichnung organischer Stoffgemische. Wien 1954. — Kofler, L., u. H. Hilbck: Mikrochemie **9**, 38 (1931). — Kuhn, R., y J. Löwe: Ciencia (Mexico, D.F.) **14**, 7 (1954). — Kussmaul u. Bornträger: Neues Jb. d. Pharmacie **24**, 242 (o.J.). Zit. nach C. Reuter 1912. — Malyoth, G., u. H. W. Stein: Biochem. Z. **322**, 165 (1952). — Marquardt, P., u. G. Vogg: Z. physiol. Chem. **291**, 143 (1952). — Müting, D.: Naturwiss. **39**, 303 (1952). — Munier, R.: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **33**, 857 (1951). — Bull. Soc. chim. France **39**, 852 (1952). — Munier, R., et N. Cherrier: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **34**, 204 (1952). — Munier, R., et M. Macheboeuf: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **33**, 846 (1951a); **33**, 1919 (1951b). — Neuberg, C.: Biochem. Z. **56**, 500 (1913); **67**, 56 (1914). — Palumbo, M.: Farmaco (Pavia) **3**, 675 (1948). Zit. nach Chem. Abstr. **43**, 3145 (1949). — Partridge, S. M.: Biochemic. J. **42**, 238 (1948). — Schultz, O., u. E. Mayer: Dtsch. Apotheker-Ztg **92**, 358 (1952). — Schwyzer, R.: Acta chim. scand. **6**, 219 (1952). — Stein v. Kamienski, E.: Planta (Berl.) **50**, 315 (1957); **50**, 331 (1958). — Steiner, M.: Beitr. Biol. Pflanz. **17**, 247 (1929). — Steiner, M., u. H. Löffler: Jb. wiss. Bot. **71**, 463 (1929). — Steiner, M., u. E. Stein v. Kamienski: Naturwiss. **40**, 483 (1953); **42**, 345 (1955). — Winterstein, E.: Die Amine. In G. Kleins Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. 4, S. 1. Wien 1933.

Dr. Elard Stein von Kamienski,
Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und -pathologie,
Abteilung für Gewebezüchtung, Berlin-Dahlem, Garystr. 9

Planta, Bd. 50, S. 315—330 (1957)

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Bonn

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE FLÜCHTIGEN AMINE DER PFLANZEN*

II. Mitteilung

DIE AMINE VON BLÜTENPFLANZEN UND MOOSEN

Von

ELARD STEIN VON KAMIENSKI

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. August 1957)

A. Einleitung. Literatur

G. KLEIN und M. STEINER (1928), M. STEINER (1929) und M. STEINER und H. LÖFFLER (1929) haben mit Hilfe der von den zuerst genannten Autoren entwickelten Methode ein umfangreiches Pflanzenmaterial, insbesondere Blüten, auf Amine untersucht. Die nicht sehr umfangreiche ältere Literatur ist bei KLEIN und STEINER zitiert. Seitdem ist u. W. nur noch über wenige neue Aminfunde aus dem Pflanzenreich berichtet worden. A. J. HENRY und D. N. GRINDLEY (1949) geben Trimethylamin für *Courbania virgata* an. O. GESSNER (1949) erwähnt das gleiche Amin für die Blüten von *Arnica montana*, B. RIEGEL (1949) für die Alge *Gonyaulax catanella*. β-Phenylaethylamin wurde von E. P. WHITE (1944) für die Blüten von *Acacia floribunda*, Methylamin von R. KAPELLER-ADLER und B. VERING (1931) für marine Algen angegeben. R. NEU u. U. FIEDLER (1954) haben unter Mitverwendung unserer Methode (M. STEINER u. E. STEIN v. KAMIENSKI 1953) die Amine der *Crataegus*-Früchte untersucht. Sie fanden Dimethyl-, Aethyl-, i-Butyl- und i-Amylamin. Für die Blätter, Blüten und Früchte werden außerdem wechselnde Mengen von Aethanolamin angegeben. Eine zusammenfassende Darstellung der gesamten Literatur, auch über die zahlreichen Aminvorkommen im Tierreiche, findet man bei M. GUGGENHEIM (1951).

Nachdem es gelungen war, mit Hilfe der Papierchromatographie ein Verfahren für die Trennung und Identifizierung der Amine zu entwickeln (M. STEINER u. E. STEIN v. KAMIENSKI 1953, E. STEIN v. KAMIENSKI 1957), welches einen deutlichen Fortschritt gegenüber den bisherigen Nachweismethoden bietet, schien es wünschenswert, durch Untersuchungen möglichst zahlreicher Arten einen Überblick über die Verbreitung der verschiedenen flüchtigen Amine im Pflanzenreich zu gewinnen. Es sollten weiterhin bei einigen geeigneten Objekten die Änderungen von Art und Menge der Amine in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand, von der Jahreszeit und von anderen Faktoren geprüft werden. Über die

* Teil einer Dissertation der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn (D 5) in gekürzter Druckfassung.

bei Blütenpflanzen und einigen Moosen erzielten Ergebnisse wird im folgenden berichtet. Die Ergebnisse der Untersuchungen von Pilzen werden an anderer Stelle mitgeteilt (E. STEIN v. KAMIENSKI 1958).

B. Die Untersuchung des Pflanzenmaterials

I. Methode

Das Pflanzenmaterial wurde möglichst frisch zur Destillation verwendet. Zum Einsammeln bewährten sich Proviantdosen aus Aluminiumblech. Zwischen Aufsammlung und Destillation lagen in der Regel nur zwei Stunden. Bei größerem Materialanfall wurde das Untersuchungsmaterial (bis zu 12 Stunden) im Kühlschrank aufbewahrt. Pflanzen, die auf größeren Exkursionen gesammelt wurden, wurden in hochprozentigem Aethanol konserviert, dem einige Tropfen HCl zugesetzt waren.

Die zur Analyse bestimmten Pflanzenteile wurden zunächst in der Mixapparatur unter Zusatz von etwas destilliertem Wasser und einigen ml 10%iger Zitronensäure gründlich zerkleinert.

Der erhaltene Organbrei wurde mit dest. Wasser quantitativ in den Destillationskolben übergeführt, mit einem Gemisch gleicher Teile 5%iger Na_2CO_3- und 5%iger NaCl-Lösung (G. KLEIN und M. STEINER 1928) deutlich lakmusalkalisch gemacht und der Wasserdampfdestillation unterworfen. Die zuweilen lästige Schaumbildung wurde durch Zusatz eines Tropfens von Silicon SH fast völlig unterbunden. Die Destillation wurde unterbrochen, wenn etwa 150 ml Destillat übergegangen waren, was meist in etwa 15 Minuten erreicht war. Vorversuche hatten gezeigt, daß innerhalb dieser Zeit alle wasserdampfflüchtigen Amine quantitativ übergehen (E. STEIN v. KAMIENSKI, 1957).

Es war folgende Destillationsapparatur in Verwendung: Das Destillationsgut kam in einen Jenaer Rundkolben — je nach Bedarf von 1 l oder 2 l Inhalt —, der durch einen doppelt tubulierten Normalschliffstopfen verschlossen war. Die bis zum Boden des Kolbens reichende Zuführung war mit einem Dampfentwickler verbunden; die knapp unter dem Stopfen endigende wegführende Röhre war über eine Glasbrücke mit einem absteigenden Liebig-Kühler verbunden, der in einer *Peligot*-Röhre von 250 ml Fassungsvermögen endigte, in der eine genügende Menge von 0,1 N HCl vorgelegt war.

Das gewonnene Destillat wurde sofort auf dem Wasserbad (70°) im Vakuum auf etwa 3—4 ml eingeengt, in Schälchen überführt und im Chlorcalciumexsiccator zur Trockne eingedampft. Zur Aufnahme der überschüssigen Salzsäure befand sich im Exsiccator ein Schälchen mit KOH. Die eingetrockneten Aminchlorhydrate wurden mit genau 2 ml destilliertem Wasser aufgenommen, in Tablettengläschen gebracht und unter Zusatz eines Körnchens Thymol für die weitere Untersuchung aufbewahrt.

Zur ersten Prüfung auf vorhandene Amine wurden 5, 10 und 20 cmm der Aminchlorhydrate auf den Startpunkt des Papierstreifens aufgetragen und zum Chromatogramm entwickelt. Die weiteren Identifizierungsmethoden wurden früher mitgeteilt (E. STEIN v. KAMIENSKI 1957)

Bei einiger Übung ist eine visuelle Schätzung der Aminmenge aus Größe und Farbintensität der Chromatogramm-Flecken recht gut möglich. Die geschätzten Absolutwerte lassen sich auf die in der Frischgewichtseinheit vorhandenen Aminmenge umrechnen[1].

[1] Arbeiten zur Gewinnung einer streng quantitativen Methode der Aminbestimmung sind in unserem Laboratorium zur Zeit im Gange.

$$\text{Aminmenge } \gamma/\text{g Frischgewicht} = \frac{a \cdot v}{c \cdot b},$$

wobei a die im Chromatogramm geschätzte Gesamt-Aminmenge (γ);
v Volumen des eingeengten Destillates (cmm);
c Volumen der zum Chromatogramm verwandten Lösung (cmm);
b Frischgewicht des destillierten Pflanzenmaterials.

Aus den an anderer Stelle gebrachten Angaben läßt sich errechnen, daß bei Einengung des Destillates auf 2 ml und Einsatz von 20 cmm zur Chromatographie ein Aminnachweis gerade noch möglich ist, wenn das gesamte Ausgangsmaterial 60 γ (bei primären Aminen) bzw. 100 γ (bei sekundären und tertiären Aminen) enthält. Kleinere Aminmengen entziehen sich dem angewandten Bestimmungsverfahren (s. E. Stein v. Kamienski, 1957, S. 296 ff).

II. Blütenpflanzen

Da sich die meisten Angaben der Literatur auf Blüten beziehen, wurden auch hier vor allem die Blüten auf Amine geprüft. Das Material stammte in der Hauptsache aus dem Botanischen Garten[1] und der Umgebung von Bonn (Venusberg, Kottenforst, Rheindämme, Siebengebirge), z. T. auch aus der Gegend bei Bad Driburg/Westfalen.

Von vielen Pflanzen wurden mehrere Proben verschiedener Entwicklungsstadien, von verschiedenen Standorten und Jahreszeiten etc. untersucht. Die Zahl der untersuchten Proben ist dann in der nachfolgenden Zusammenstellung in Klammern vermerkt. Wurden nicht oder nicht nur die Blüten (Bl.), sondern die Blätter (B.), das Kraut (K.) oder die Früchte (Fr.) auf Amine geprüft, so ist das gleichfalls in Klammern vermerkt. Arten, bei denen *keine* Amine gefunden wurden, sind durch ° gekennzeichnet. Wegen der aminführenden Arten vgl. die Übersichten S. 319 ff,; wegen des in Spuren weit verbreiteten Methylamins vgl. S. 319.

1. Untersuchte Arten

Ginkgoaceae. *Ginkgo biloba* (5, Fr.).

Magnoliaceae. °*Magnolia stellata*, °*M. lenneana* (2), °*M. soulangeana*.

Calycanthaceae. °*Calycanthus floridus* (2, Bl., B.).

Ranunculaceae. °*Clematis vitalba* (3), °*Thalictrum aquilegifolium*, °*Th. flavum*, °*Cimicifuga racemosa*, °*Delphinium consolida*.

Berberidaceae. °*Mahonia aquifolium*, °*Berberis vulgaris* (2).

Nymphaeaceae. *Nuphar luteum* (4), °*Nymphaea alba*.

Aristolochiaceae. *Aristolochia grandiflora* (9).

Rosaceae. °*Spiraea superba*, °*Sp. bracteata*, °*Holodiscus discolor*, *Aruncus silvester*, *Sorbaria sorbifolia*, °*Cotoneaster acutifolia*, *C. conspicua*, *C. integerrima*, *Chaenomeles japonica*, *Ch. alpina*, *Pirus communis* (6), *Sorbus aucuparia* ,(7), *S. latifolia*, °*Malus spectabilis* (2), °*M. domestica*, *Crataegus monogyna* (4), *C. oxyacantha* (3), *C. tomentosa* (3), *C. douglasii* (2), *C. jozana* (2), *C. stipulosa* (2), *C. fecunda* (2), *C. pinnatifida* (2, Bl., Fr.), *C. curvisepala*, *C. digyna*, *C. mollis*, °*C. speciosa*, *C. insperata*, *Amelanchier rotundifolia*, °*Rosa sp.*, *Filipendula ulmaria* (6), °*Fragaria vesca*, *Sanguisorba officinalis*, °*S. minor*, *Prunus serotina* (2), *P. padus*

[1] Herrn Professor Dr. Schumacher und Herrn Gartenoberinspektor J. Strasberger bin ich für Überlassung reichlichen Pflanzenmaterials zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

var. aucubifolia, *P. padus var. petraea* (4), °*P. spinosa* (2), °*P. avium* (2), *P. domestica* (2), °*P. mahaleb*, °*P. lannesiana*, °*P. serrulata* (3 Varietäten), °*P. armeniaca*, °*P. persica*, *P. yedonensis*, *P. cerasifera var. pendulata*.

Saxifragaceae. °*Ribes rubrum*, °*R. sanguineum*, °*R. nigrum* (2), °*Hydrangea arborescens*, °*H. quercifolia*, *Philadelphus delavari*, *Ph. lemoinei*, °*Ph. sericanthus*, °*Ph. latifolius*, °*Deutzia crenata*, °*D. gracilis*.

Papilionaceae. °*Wistaria sinensis*, °*Sarothamnus scoparius*, °*Cytisus laburnum*, °*Robinia pseudacacia*, °*Lathyrus odoratus*.

Oenotheraceae. *Oenothera lamarckiana* (2), °*Oe. missouriensis*.

Papaveraceae. °*Papaver somniferum*.

Cruciferae. °*Brassica oleracea*, °*Capsella bursa pastoris* (K.).

Resedaceae. °*Reseda lutea*.

Cistaceae. °*Cistus laurifolius*.

Tamaricaceae. °*Tamarix dahurica*.

Tiliaceae. °*Tilia cordata*.

Rutaceae. °*Dictamnus albus*, °*Ptelea trifoliata*, *Phellodendron amurense*.

Aceraceae. °*Acer pseudoplatanus* (2), °*A. pinnata*.

Staphylaeaceae. *Staphylaea colchica* (2).

Hippocastanaceae. °*Aesculus hippocastanum*.

Simarubaceae. °*Ailanthus glandulosa* (3).

Anacardiaceae. °*Rhus typhina*.

Celastraceae. °*Evonymus latifolia*.

Cornaceae. °*Cornus alba* (2), *C. alba ssp. tatarica* (2), *C. sanguinea* (2).

Araliaceae. °*Panax sessiliflorum*, °*Hedera helix*.

Umbelliferae. *Heracleum sphondylium* (6), °*H. mantegazzianum*, °*H. villosum*, °*Daucus carota*, °*Cicuta virosa*, °*Torilis anthriscus*, *Pimpinella magna* (4), °*Angelica silvestris* (2), °*Aegopodium podagraria* (2), °*Chaerophyllum villarsii*, *Ch. aromaticum*, °*Ch. temulum*, *Anthriscus silvestris*, °*Cnidium silaifolium*, °*Peucedanum oreoselinum*, *Conium maculatum*, °*Sium latifolium*.

Fagaceae. °*Castanea sativa* (2), °*Fagus silvatica* (Fr.).

Cannabinaceae. °*Humulus lupulus* (2).

Euphorbiaceae. °*Euphorbia cyparissias*, *Mercurialis perennis* (12, B., K.), *M. annua* (21, Bl., B., K.).

Polygonaceae. °*Polygonum alpinum*, *P. cuspidatum*.

Caryophyllaceae. °*Dianthus superbus*.

Chenopodiaceae. *Chenopodium vulvaria* (B., K.), °*Ch. glaucum* (B.).

Ericaceae. °*Rhododendron gaulavense*.

Gentianaceae. °*Menyanthes trifoliata*.

Asclepiadaceae. *Vincetoxicum officinale* (2), °*Asclepias syriaca*.

Polemoniaceae. °*Phlox paniculata*.

Loganiaceae. °*Buddleia variabilis*.

Oleaceae. °*Ligustrum vulgare* (2), °*Syringa vulgaris*.

Borraginaceae. °*Symphytum officinale*.

Labiatae. °*Ballota nigra* (B., Bl.), °*Mentha aquatica* (B), °*M. viridis* (B).

Solanaceae. *Nicotiana tabacum* (2, Bl., B.), *N. rustica* (2, Bl., B.), *N. longiflora*, *N. paniculata*, *N. sanderae*, *Atropa belladonna* (4, Bl., B.), °*Datura arborea*, °*D. stramonium* (B.).

Scrophulariaceae. °*Scrophularia nodosa*, °*Verbascum thapsiforme*.

Bignoniaceae. °*Catalpa bignonioides*.

Rubiaceae. *Galium mollugo* (2), *G. verum*, *G. silvaticum*.

Caprifoliaceae. °*Lonicera caprifolium*, °*L. ruprechtiana* (2), °*Sambucus racemosa* (2), *S. nigra* (12), °*S. ebulus* (3), *Viburnum lantana* (3), °*V. buddleiifolium*, *V. rhytidophyllum*, *V. betulifolium*, °*V. sargenti*, *V. opulus* (4).

Adoxaceae. °*Adoxa moschatellina.*
Valerianaceae. °*Valeriana officinalis* (2).
Cucurbitaceae. *Bryonia dioica* (2), °*Cucurbita pepo.*
Campanulaceae. °*Campanula trachelium*, °*Codonopsis clematidea.*
Compositae. °*Tanacetum vulgare*, °*Eupatorium cannabinum*, °*Achillea millefolium*, °*Cirsium arvense*, °*Arnica longifolia*, °*Matricaria inodora*, °*Calendula officinalis*, °*Petasites albus* (B.), °*Taraxacum officinale.*
Liliaceae. *Veratrum nigrum*, *Lilium candidum*, *L. martagon*, °*Tulipa gesneriana* (2).
Iridaceae. *Iris germanica.*
Gramineae. °*Lolium temulentum* (Fr.).
Orchidaceae. °*Epipactis latifolia*, °*Orchis morio.*
Araceae. *Arum italicum* (13, Inflorescenzen mit u. ohne Spatha), *A. maculatum* (4, mit Spatha), °*Dieffenbachia picta*, °*Alocasia odora*, °*A. macrorhiza* (mit Spatha).
An Drogen wurden untersucht:
Flores Crataegi (2), *Fructus Crataegi* (2), °*Fr. Conii.*

2. Die Verbreitung der einzelnen Amine. Es wurden 220 Arten aus 47 Familien der Spermatophyten auf Amine geprüft. In 75 Arten, die sich auf 13 Familien verteilen, wurden Amine mit Sicherheit festgestellt. Im einzelnen wurden gefunden:

Methylamin (Meth.) in 25 Arten (s. a. S. 319);
Dimethylamin (Dim.) in 1 Art (s. a. S. 321);
Trimethylamin (Trim.) in 19 Arten (s. a. S. 323);
Aethylamin (Aeth.) in 3 Arten (s. a. S. 323);
i-Butylamin (i-But.) in 15 Arten (s. a. S. 324);
i-Amylamin (i-Am.) in 57 Arten (s. a. S. 324);
β-Phenylaethylamin (Ph. Aeth.) in 16 Arten (s. a. S. 325).

Ammoniak war in allen Proben nachweisbar. Meist kamen etwa 20—40 γ auf 1 g Frischgewicht. Aminführende Pflanzenteile scheinen i. a. einen höheren NH_3-Gehalt zu haben als aminfreie.

In der nachfolgenden Aufzählung werden die Begleitamine in Klammern mit den oben angeführten Abkürzungen nach den Pflanzennamen vermerkt[1]. Aminvorkommen, welche u. W. hier zum ersten Male angegeben werden, sind durch ein (n) gekennzeichnet.

a) Methylamin. In der nachfolgenden Liste sind nur Arten aufgeführt, die einen sehr deutlichen Gehalt an Methylamin, 1 γ und mehr je g Frischgewicht, aufwiesen. Spuren von Methylamin findet man fast bei allen Pflanzen.

Ginkgo biloba, Fr. (n)
Thalictrum flavum (n)
Delphinium consolida (n)
Nuphar luteum (n) (i-Am., i-But.)
Philadelphus lemoinii (n)
Staphylaea colchica (n) (i-Am.)
Heracleum sphondylium (n) (Trim., Dim.)
Chaerophyllum aromaticum (n) (Trim., Dim.)

[1] Wegen der ausführlichen Protokolle über die Untersuchung der einzelnen Arten und Proben und der dabei erzielten Ergebnisse muß auf E. Stein v. Kamienski (1955) verwiesen werden.

Conium maculatum (n) (i-But.) (?)
Mercurialis annua, B. (i-Am.)
Mercurialis perennis, B. (i-Am. ?)
Nicotiana tabacum, B. u. Bl. (i-Am.)
Nicotiana rustica, B. u. Bl. (i-Am.)
Nicotiana longiflora (i-Am.)
Nicotiana paniculata, Bl. (n) (i-Am.)
Nicotiana sanderae (n) (i-Am.)
Atropa belladonna, B. u. Bl. (i-Am.)
Sambucus niger (n) (i-Am., i-But.)
Viburnum opulus (n) (i-Am.)
Veratrum nigrum (n)
Lilium candidum (n)
Lilium martagon (n)
Iris germanica (n)
Arum italicum (n) (i-But.)
Arum maculatum (n) (i-But.)

Methylamin war bisher nur für recht wenige Pflanzen bekannt. Das bereits von E. SCHMIDT (1875) angegebene Vorkommen in *Mercurialis annua* und *M. perennis* wurde schon von G. KLEIN und M. STEINER (1928) und neuerdings von B. T. CROMWELL (1949) bestätigt. Weitere Literaturangaben beziehen sich auf das Rhizom von *Acorus calamus* (G. TRIER, 1912) und verschiedene Algen (N. WAKEMAN, 1925, R. KAPELLER-ADLER und T. CSATO 1930, R. KAPELLER-ADLER und B. VERING 1931).

Nach unseren Untersuchungen ist Methylamin im Pflanzenreich sehr weit verbreitet, nicht nur unter den Blütenpflanzen, sondern auch bei höheren Pilzen. Es kommt zusammen mit anderen Aminen vor, findet sich aber auch in Pflanzen, die sonst keinerlei andere Amine enthalten. Interessant und möglicherweise nicht ohne Bedeutung ist der relativ hohe Methylamingehalt bei manchen alkaloidführenden Pflanzen (*Nicotiana*, *Atropa*, *Conium*). Hier ist Methylamin auch in den vegetativen Teilen in größeren Mengen anzutreffen. Auffallend ist auch ein verhältnismäßig hoher Methylamingehalt (15—40 γ/g Frg.) der Blüten einiger Liliaceen (*Veratrum nigrum*, *Lilium candidum*) und von *Iris germanica*. Erwähnt sei, daß auch die stark nach Buttersäure riechenden Samen von *Ginkgo biloba* viel Methylamin enthalten, das im Laufe des Winters allmählich verschwindet: 13. 11. 53: 40—50, 25. 11. 53: 40—50, 2. 12. 53: 15, 14. 1. 54: 0 γ/g Frischgew.

Mit der Biochemie der Methylaminbildung bei *Mercurialis perennis* hat sich B. T. CROMWELL (1949) beschäftigt. Er untersuchte den Anstieg des Methylamingehaltes in Blättern, die mit möglichen Vorstufen infiltriert worden waren. Methylaminoaethanol führte zu einer starken, Glykokoll zu einer geringeren, aber noch deutlichen Zunahme. Aethanolamin, Dimethylamin, Trimethylamin, Cholin, Betain waren ohne Effekt. Verfasser zieht deshalb eine Methylaminbildung durch oxydative Spaltung von Methylaminoaethanol in Betracht:

$$CH_3NHCH_2CH_2OH \xrightarrow{+H_2O,+2O} CH_3NH_2 + CH_2OHCOOH + H_2O$$

Der gleiche Verfasser fand bei seinem Untersuchungsmaterial einen Anstieg des Methylamingehaltes vom Frühjahr bis zur Blütezeit und dann wieder eine Abnahme im Laufe des Sommers. Unsere eigenen Untersuchungen deuten auf viel kompliziertere Verhältnisse.

Tabelle 1 zeigt, daß die von uns im Herbst 1953 untersuchten Pflanzen von *Mercurialis perennis* gar kein Amin enthielten, während

Tabelle 1. *Mercurialis perennis*

Datum	Herkunft	Material	Methylamin (γ/g Frg.)	i-Amylamin (γ/g Frg.)
10. 8. 1953	Linz/Rh.	ganzer Sproß	0	0
16. 9. 1953	Siebengebirge	ganzer Sproß noch grün	0	0
17. 9. 1953	Siebengebirge	ganzer Sproß noch grün	0	0
20. 4. 1954	Reelsen	frisch treibende Sprosse	0	0
29. 4. 1954	Siebengebirge	blühend	8	0
8. 5. 1954	Ahrtal	♂ Pflanzen	0	0
8. 5. 1954	Ahrtal	♀ Pflanzen	0	0
28. 6. 1954	Ahrtal	Blätter	100	Sp. (?)
28. 6. 1954	Ahrtal	Blätter	150	0
28. 6. 1954	Siebengebirge	Blätter, etwas welk	150	0
28. 9. 1954	Siebengebirge	Blätter	25	Sp.

der Amingehalt im Jahre 1954 innerhalb recht weiter Grenzen schwankte. Diesmal konnte auch im spätherbstlichen Material noch recht viel Methylamin nachgewiesen werden. Von *Mercurialis annua* wurde eine noch größere Zahl von Proben untersucht (Tabelle 2). Die Proben von 1953 waren durchweg aminärmer als diejenigen von 1954. Die Menge des Amylamins lag durchschnittlich um eine Zehnerpotenz unter der des Methylamins. Im übrigen ist es kaum möglich, in den nach Datum und Ort stark schwankenden Mengenangaben irgendeine Regel zu finden. Man hat den Eindruck, daß die Analysen ± zufällige Momentbilder festhalten, und daß der Amingehalt sehr stark vom jeweiligen physiologischen Zustand bestimmt wird. Es ist durchaus möglich, daß die Amine relativ rasch angehäuft, ebenso rasch aber wieder verschwinden können. In diese Richtung weist ein Welkversuch mit *Mercurialis annua*. Gleiche Portionen (50 g) männlicher und weiblicher Pflanzen wurden sofort nach dem Einsammeln und nach 7- bzw. 24stündigem Welken auf Amine geprüft (Tabelle 3). Es ergab sich eine sehr deutliche Abnahme des Amingehaltes während des Versuches.

b) Dimethylamin. Einziges Vorkommen: *Heracleum sphondylium.*

Dies ist u. W. der erste Fall, daß dieses Amin bei höheren Pflanzen gefunden wurde. Es wurden 7 verschiedene Blütenproben dieser Art untersucht. 2mal (Bonn, 1. 7. 1953, Siebengebirge 28. 6. 1954) wurden Methyl-, Dimethyl- und Trimethylamin in wechselnden Mengen nebeneinander gefunden, 1mal (Kottenforst 14. 9. 1953) Methyl- und Trimethylamin, 1mal (Bonn 29. 7. 1954) Methyl- und Dimethylamin. In

Tabelle 2. *Mercurialis annua*

Datum	Herkunft	Material	Methylamin (γ/g Frg.)	i-Amylamin (γ/g Frg.)
23. 7. 1953	Bonn, Institutsgarten	♂ u. ♀, Sprosse	0	5
5. 8. 1953	Bonn, Institutsgarten	♂ u. ♀, Blätter	0,5	12
17. 9. 1953	Niederdollendorf	♀, Sprosse	0	0
24. 9. 1953	Bonn, Institutsgarten	♀, Blätter u. Blüten	0	0
24. 9. 1953	Bonn, Institutsgarten	♀, Blätter	0	0
8. 10. 1953	Bonn, Institutsgarten	♂, Blüten	7	10
8. 10. 1053	Bonn, Institutsgarten	♂, Blätter u. Blüten	5	3
8. 10. 1953	Bonn, Institutsgarten	♀, Blätter	0	0
5. 11. 1953	Bonn, Nußallee	♂, Blätter	10	5
19. 11. 1953	Bonn, Reuterbrücke	♂, Blüten	50	12
19. 11. 1953	Bonn, Reuterbrücke	♂, Blätter	8	12
19. 11. 1953	Bonn, Reuterbrücke	♀, Blätter u. Früchte	35	8
15. 12. 1953	Bonn, Anatom. Inst.	♂, Blätter	50	20
15. 12. 1953	Bonn, Anatom. Inst.	♂, Blätter	170	20
15. 12. 1953	Bonn, Anatom. Inst.	♀, Blätter u. Früchte	100	20
24. 4. 1954	Venusberg	♀, Blätter	10	8
24. 4. 1954	Venusberg	♂, Blätter	12	4
29. 7. 1954	Venusberg	♀, Blätter	8	5
13. 9. 1954	Venusberg	♀, Blätter u. Blüten	100	40
13. 9. 1954	Venusberg	♂, Blätter u. Blüten	40	8

Tabelle 3. *Welkversuch mit Mercurialis annua*
(Bonn, Anatomisches Institut, 15. 11. 1953)

Material	Methylamin (γ/g Frg.)	i-Amylamin (γ/g Frg.)
♂, frisch	90	35
♂, 7 Std gewelkt, 14,5% Gewichtsverlust . . .	15	5
♂, 24 Std gewelkt, 30% Gewichtsverlust . . .	15	5
♀, frisch	45	15
♀, 7 Std gewelkt, 14,5% Gewichtsverlust . . .	35	5
♀, 24 Std gewelkt, 31% Gewichtsverlust . . .	15	5

2 Proben (Siegmündung 20. 8. 1953, Melbtal 3. 8. 1953) waren überhaupt keine Amine nachweisbar. Auch bei Pilzen und bei der Flechte *Sticta sylvatica* fand sich die Kombination der 3 Methylamine (E. STEIN v. KAMIENSKI, 1958).

c) Trimethylamin

Aristolochia grandiflora (?)
Sorbaria sorbifolia (n) (i-Am., Ph. Aeth.)
Prunus serotina (n) (i-Am.)
Pirus communis (i-Am., Ph. Aeth., i-But.)
Sorbus aucuparia (i-Am., Ph. Aeth., i-But.)
Crataegus monogyna (i-Am., Ph. Aeth.)
Crataegus oxyacantha (i-Am., Ph. Aeth.)
Crataegus douglasii (n) (i-Am., i-But., Ph. Aeth.)
Crataegus jozana (n) (i-Am., Ph. Aeth.)
Crataegus spinulosa (n) (i-Am., i-But., Ph. Aeth.)
Crataegus fecunda (n) (i-But., i-Am., Ph. Aeth.)
Crataegus curvisepala (n) (i-Am., Ph. Aeth.)
Crataegus mollis (n) (i-Am., Ph. Aeth.)
Crataegus insperata (n) (i-Am., Ph. Aeth.)
Cornus sanguinea (Ph. Aeth.)
Heracleum sphondylium (n) (Dim., Meth.)
Chenopodium vulvaria, B.

Dieses Amin wurde bereits von G. Klein und M. Steiner (1928) und M. Steiner und H. Löffler (1929) in Blüten vieler Pflanzen festgestellt, deren Nachuntersuchung hier in fast allen Fällen eine Bestätigung ergab. Auffallend ist, daß diesmal in den Blüten von *Aristolochia grandiflora* höchstens Spuren von Trimethylamin nachweisbar waren. Wenig überraschend ist, daß eine Reihe bisher nicht untersuchter *Crataegus*-Arten Trimethylamin enthielten. Hier wie auch in anderen Pflanzen kommt dieses gewöhnlich zusammen mit anderen Aminen vor, ohne daß sich die Bevorzugung einer bestimmten Kombination erkennen ließe.

Bemerkenswert ist, daß Trimethylamin in den Blüten von *Prunus serotina* neben wenig i-Amylamin reichlich vorkommt; 2 Proben (Venusberg, Westerwald) mit 100 bzw. 80 γ/10 g Frg.; 11 andere untersuchte *Prunus*-Arten enthielten kein Trimethylamin, auch nicht die nahe verwandte *Prunus padus*.

d) Aethylamin

Bryonia dioica (n) (i-Am.?)
Arum italicum (n) (i-But., Meth.)
Arum maculatum (n) (i-But., Meth.)

Auch Aethylamin war bisher in höheren Pflanzen nicht gefunden worden. Die obigen Ergebnisse sind durch mehrfache Wiederholung gesichert. Von *Bryonia* wurden 2 Proben aus der Umgebung von Bonn untersucht. Das Material von *Arum italicum* (11 Proben) stammte aus der Gegend von Alassio (Ligurien) (9 Proben) und aus Sizilien (2 Proben). Es wurde bei der Aufsammlung in HCl-Alkohol konserviert. Die Inflorescenz ohne Spatha enthielt in fast allen Fällen nebeneinander i-Butyl-, Aethyl- und Methylamin. Eine Ausnahme bilden nur Appendices von abblühenden, kaum mehr duftenden Inflorescenzen, in denen einmal nur i-Butylamin, ein anderes Mal überhaupt kein Amin mehr gefunden wurde. Von *Arum maculatum* wurden 4 Proben der Bonner Umgebung geprüft. Die noch nicht geöffneten Knospen enthalten zunächst nur i-Butylamin. Während der (weiblichen) Voll-Anthese gesellt sich Aethylamin dazu; der i-Butylamingehalt steigt zu gleicher Zeit an. Das Butylamin überwiegt überhaupt bei beiden *Arum*-Arten an Menge die Begleitamine.

e) i-Butylamin

Nuphar luteum (n) (i-Am., Meth.)
Filipendula ulmaria (n) (i-Am.)
Pirus communis (n) (i-Am., Trim., Ph. Aeth.)
Sorbus aucuparia (n) (i-Am., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus tomentosa (n) (i-Am.)
Crataegus douglasii (n) (i-Am., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus spinulosa (n) (i-Am., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus fecunda (n) (i-Am., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus digyna (n) (i-Am.)
Crataegus insperata (n) (Ph. Aeth., i-Am., Trim.)
Fructus Crataegi (i-Am., Aeth. [Sp.])
Conium maculatum (n) (Meth.)
Vincetoxicum officinale (n) (i-Am., Meth.)
Sambucus nigra (n) (i-Am.) nur 1953, nicht 1954
Arum italicum (Meth., Aeth.)
Arum maculatum (Meth., Aeth.)

Über die Verbreitung dieses Amins war bisher nur wenig bekannt. Von den früheren Untersuchern wurde es wahrscheinlich deshalb übersehen, weil es als Dinitro-α-Naphthalat neben i-Amylamin nicht leicht zu identifizieren ist. Gerade diese beiden Amine kommen aber häufig zusammen vor. Durch die Anwendung der Papierchromatographie lassen sich die beiden Amine leicht trennen. Bezüglich des Mengenverhältnisses der beiden Amine ist keine bestimmte Regel zu erkennen. Bei *Crataegus*-Arten ist ihre Menge etwa gleich, bei *Sorbus*- und *Pirus*-Arten überwiegt das i-Amylamin. Zu erwähnen ist, daß i-Butylamin bei *Filipendula ulmaria* und bei *Sambucus nigra* nur im Jahre 1953, nicht aber 1954 gefunden wurde.

f) i-Amylamin

Nuphar luteum (n) (i-But., Meth.)
Aruncus silvester (n)
Cotoneaster conspicua (n)
Cotoneaster integerrima (n)
Sorbaria sorbifolia (n) (Ph. Aeth., Trim.)
Amelanchier rotundifolia (n)
Crataegus monogyna (Ph. Aeth., Trim.)
Crataegus oxyacantha (Ph. Aeth., Trim.)
Crataegus tomentosa (n) (i-But.)
Crataegus douglasii (n) (i-But., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus jozana (n) (i-But., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus spinulosa (n) (i-But., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus fecunda (n) (i-But., Trim., Ph. Aeth.)
Crataegus pinnatifida (n)
Crataegus curvisepala (n) (Ph. Aeth., Trim.)
Crataegus digyna (n) (i-But.)
Crataegus mollis (n) (Trim.)
Crataegus insperata (n) (i-But., Trim., Ph. Aeth.)
Flores Crataegi (Ph. Aeth.)
Fructus Crataegi (Aeth. [Sp.], i-But.)
Pirus communis (i-But., Trim., Ph. Aeth.)
Sorbus aucuparia (n) (i-But., Trim., Ph. Aeth.)
Filipendula ulmaria (i-But.)
Sanguisorba officinalis
Chaenomeles japonica (n)
Chaenomeles alpina (n) (i-But.)
Prunus domestica (n) (?)
Prunus yedonensis (n)
Prunus serotina (n) (Trim.)
Prunus padus (n)
Prunus avium (n) Sp.
Prunus cerasifera (n)
Hydrangea quercifolia (n) (?)
Oenothera lamarckiana (n)
Phellodendron amurense (n)
Staphylaea colchica (n) (Meth.)
Anthriscus silvestris (n)
Chaerophyllum aromaticum (Meth.)

Pimpinella magna (?)
Mercurialis annua, B. (Meth.)
Mercurialis perennis, B. (n) (Meth.)
Polygonum cuspidatum (n)
Vincetoxicum officinale (i-But., Meth.)
Nicotiana tabacum, Bl. u. B. (Meth.)
Nicotiana rustica (Meth.)
Nicotiana longifolia (Meth.)
Nicotiana paniculata (Meth.)
Nicotiana sanderae (Meth.)
Atropa belladonna (Meth., Ph. Aeth.)
Galium silvaticum (n)
Galium mollugo (n) (?)
Galium verum (n)
Sambucus nigra (i-But., Meth.)
Viburnum lantana (n)
Viburnum rhytidophyllum (n)
Viburnum betulifolium (n)
Viburnum opulus (n) (Meth.)
Bryonia dioica (n) (?) (Aeth.)

An Zahl der festgestellten Vorkommen überragt dieses Amin alle übrigen, wenn man von Methylamin absieht, welches in Spuren in fast allen untersuchten Arten angetroffen wird. Häufig kommt i-Amylamin mit anderen Basen vor. Meistens überwiegt es dann mengenmäßig die Begleitamine. Ein besonders häufiger Begleiter ist β-Phenylaethylamin. Das Mengenverhältnis ist dann in der Regel etwa 10 T. i-Amylamin: 1 T. β-Phenylaethylamin. *Nuphar luteum* und *Sambucus nigra* haben aber viel vom ersteren ohne eine Spur des letzteren.

g) β-Phenylaethylamin.

Sorbaria sorbifolia (n) (Trim., i-Am.)
Pirus communis (n) (Trim., i-Am., i-But.)
Sorbus aucuparia (n) (Trim., i-Am., i-But.)
Crataegus monogyna (n) (i-Am., Trim.)
Crataegus oxyacantha (n) (?) (i-Am., Trim.)
Crataegus douglasii (n) (i-Am., Trim.)
Crataegus jozana (n) (i-Am., Trim.)
Crataegus spinulosa (n) (i-But., i-Am., Trim.)
Crataegus fecunda (n) (i-But., i-Am., Trim.)
Crataegus curvisepala (n) (i-Am., Trim.)
Crataegus insperata (n) (i-Am., i-But., Trim.)
Flores Crataegi (n) (i-Am.)
Philadelphus delavari (n)
Cornus alba ssp. tatarica (n)
Cornus sanguinea (n) (Trim.)
Vincetoxicum officinale (n) (i-Am., i-But., Meth.)

Über das Auftreten dieses Amins lagen bisher nur spärliche Angaben vor. Aus der Zusammenstellung von M. Guggenheim (1951) ist zu entnehmen, daß es Leprince (1907) im Destillat von *Viscum album* feststellte, Crawford (1911) im Extrakt der amerikanischen Mistel *Phoradendron flavescens* und White in den Blüten von *Acacia floribunda* und anderen *Acacia*-Arten, bis zu 0,2%, in einem Gemisch von Tryptamin.

Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen scheint β-Phenylaethylamin recht weit verbreitet zu sein. Besonders häufig begleitet es in Blüten das i-Amylamin (s. oben), ohne dieses wurde es in *Cornus*- und *Philadelphus*-Arten gefunden.

3. Allgemeine Bemerkungen über das Auftreten der Amine bei Blütenpflanzen. In Übereinstimmung mit früheren Untersuchern (G. Klein und M. Steiner; M. Steiner und H. Löffler) kann gesagt werden, daß die Amine, besonders in den Blüten, über das ganze System der Blütenpflanzen verbreitet sind. In einigen Familien treten sie gehäuft auf: z. B. bei den *Rosaceae*, *Cornaceae*, *Caprifoliaceae* und *Araceae*.

Umgekehrt scheinen andere Familien kaum Amine zu produzieren; sie wurden z. B. in keiner *Labiate* oder *Papilionacee* gefunden.

Selbst *innerhalb einer Gattung* kann sich ein recht buntes Bild ergeben. Als Beispiel diene die Gattung *Crataegus*, von welcher 13 Arten untersucht wurden[1]. Es enthalten

Trimethyl-, i-Butyl-, i-Amyl- und β-Phenylaethylamin: *C. douglasii, fecunda, insperata.*

Trimethyl-, i-Butyl- und i-Amylamin: *C. spinulosa.*

Trimethyl-, i-Amyl- und β-Phenylaethylamin: *C. curvisepala, jozana, monogyna.*

Trimethyl- und i-Amylamin: *C. mollis, oxyacantha.*

i-Butyl- und i-Amylamin: *C. digyna, tomentosa.*

Keine Amine: *C. speciosa.*

Aminführende Blüten haben in der Regel eine weiße Farbe *(Cornaceae, Rosaceae, Caprifoliaceae)* oder eine unscheinbare grünliche oder rötlichbraune Farbe *(Bryonia, Solanaceae, Sanguisorba)*. In eigentlich bunten Blüten sind Amine eher eine Ausnahme (z. B. *Nuphar luteum*). Das in Spuren sehr weit verbreitete Methylamin bleibt hierbei außer Betracht. In der Regel sind Aminblüten durch einen ± unangenehmen Geruch ausgezeichnet. Auf blütenbiologische Zusammenhänge — Besuch durch Fliegen und Käfer — haben bereits G. KLEIN und M. STEINER (1928) hingewiesen.

Für die Zusammenhänge zwischen Aminführung und Entwicklungsalter liefern unsere Ergebnisse einige Anhaltspunkte (Tabelle 4).

Man kann also feststellen, daß schon in den geschlossenen Knospen Amine vorliegen. Ihre Menge steigt bis zur Vollanthese an und nimmt beim Abblühen wieder ab. Das erste Amin, welches nachweisbar wird, ist in der Regel dasjenige, welches später quantitativ überwiegt.

Aus vielen Einzelergebnissen scheint hervorzugehen, daß der Amingehalt der Blüten bei trockenem, warmem Wetter höher ist als bei feuchter, kalter Witterung. Manche qualitativen und vor allem quantitativen Unterschiede in den Ergebnissen von 1953 und 1954 mögen darin eine Erklärung finden: die Sommermonate (Juni—September) waren 1954 ungewöhnlich kühl und naß, im Vorjahre hingegen warm und sonnig.

In einer großen Zahl von Beispielen scheint die Regellosigkeit zunächst die einzig erkennbare Regel zu sein. Wie schon früher erwähnt, hat man den Eindruck, daß Menge und Art der in einer Pflanzenprobe

[1] Während R. NEU und U. FIEDLER (1954) für Weißdornfrüchte Dimethyl-, Aethyl-, i-Butyl- und i-Amylamin angeben, konnten wir in einem Handelsmuster von *Fructus Crataegi* neben den beiden zuletzt genannten Aminen und β-Phenylaethylamin nur Spuren von Methyl- und Aethylamin, aber *kein* Dimethylamin finden. Die Unterschiede in den Befunden sind vielleicht zu erklären, wenn man die bedeutende quantitative und qualitative Variabilität der Amine in den *Crataegus*-Blüten betrachtet. In Früchten von *Crataegus pinnatifida* z. B. konnten wir überhaupt keine Amine feststellen.

Tabelle 4. *Blütenentwicklung und Amingehalt*

Datum	Entwicklungszustand	Amine (γ/g Frg.)
	Pirus communis (Bonn)	
22. 4. 54	Knospen, grün	Trim. 15, i-But. 20, i-Am. 125, Ph. Aeth. 8
22. 4. 54	Blüten, voll geöffnet	Trim. 25, i-But. 20, i-Am. 125, Ph. Aeth. 6
	Crataegus tomentosa (Bonn, Bot. Garten)	
3. 5. 54	Knospen, Spitzen gerade weiß	i-But. 8, i-Am. 8
5. 5. 54	Blüten, voll geöffnet	i-But. 10, i-Am. 10
7. 5. 54	Blüten, am Abblühen	i-But. 3, i-Am. 5
	Crataegus douglasii (Bonn, Venusberg)	
8. 5. 54	Knospen, Spitzen gerade weiß	Trim. 10
16. 5. 54	Blüten, voll geöffnet	Trim. 100, i-But. 12, i-Am. 40, Ph. Aeth. 5
	Sambucus nigra (Bonn, Institutsgarten)	
13. 5. 54	Knospen, grün, sehr jung	0
28. 5. 54	Knospen, grün mit weißer Spitze	i-Am. 25, unbek. Sp. [1]
28. 5. 54	Blüten, voll geöffnet	i-Am. 50, unbek. 2
5. 6. 54	Blüten, voll geöffnet, etwas welk	Meth. 4, i-Am. 50, unbek. 10
10. 6. 54	Blüten, voll geöffnet, regennaß	Meth. 2, i-But. (?) 2, i-Am. 25, unbek. 2

[1] Wegen des „unbekannten Amins" in *Sambucus* vgl. S. 328.

vorliegenden Amine von zahlreichen Faktoren beeinflußt werden, deren Analyse eine streng quantitative Bestimmungsmethode voraussetzt. Es darf nicht übersehen werden, daß die auf visueller Schätzung beruhenden Mengenangaben dieser Arbeit nicht mehr als Anhaltspunkte geben können.

4. Amine in den Destillaten senfölhaltiger Pflanzen. E. Andre und M. Cartoures (1952), A. Kjaer und K. Rubenstein (1953), A. Kjaer und J. Conti (1953), A. Kjaer, J. Conti und K. Jensen (1953), A. Kjaer, J. Conti und J. Larsen (1953) und K. Jensen, J. Conti und A. Kjaer (1953) haben papierchromatographische Verfahren zum Nachweis der Senföle entwickelt. Durch Zerreiben der Pflanzen setzten sie die Myrosinase in Freiheit und spalteten dadurch die Senföle aus den Glykosiden ab. Mittels Wasserdampf destillierten sie dann die Senföle in eine NH_4OH-Vorlage über. Hierbei blieben die Senföle intakt und konnten als solche chromatographisch identifiziert werden.

Bei unseren Versuchen wurden die Pflanzenteile aus *alkalischem* Milieu destilliert. Dabei werden die Senföle unter Bildung der entsprechenden Amine verseift. Die letzteren gehen in die Vorlage über. Ihr Nachweis gibt also eine indirekte Methode für die Identifizierung der ursprünglich vorliegenden Senföle. Ein Nachteil unseres Verfahrens liegt

in der geringen Empfindlichkeit gerade für i-Propylamin, welches bei der Senfölspaltung häufig zu erwarten wäre. Tabelle 5 bringt einige Beispiele.

Tabelle 5. *Amine bei der alkalischen Destillation senfölhaltiger Pflanzenteile*

Art	Organ	Amine γ/g Frg.
Diplotaxis tenuifolia . . .	Blätter	0
Tropaeolum majus	Blüten	Benzylamin 35
Tropaeolum majus	Blüten	Benzylamin 65
Tropaeolum minus	Blüten	Benzylamin 95
Thlaspi arvense	Samen, mit Wasser zerrieben, 24 h stehen gelassen	Allylamin 110
Brassica nigra	Samen, wie vorige	Allylamin 3000
Armoracia rusticana . . .	Wurzel	Benzylamin (?) Sp., Allylamin 55, β-Phenylaethylamin 3

5. Unbekannte Amine in *Sambucus nigra*, *Prunus padus* und *Viburnum*-Arten. In den Chromatogrammen der Destillate von *Sambucus nigra* und *Prunus padus* treten zwei Ninhydrin-positive Flecken auf, die nicht zu identifizieren waren.

Auf Na-Acetat-Papier mit Butanol/Wasser/Eisessig (50/49/1) erscheinen bei Besprühung mit Ninhydrin ein schwacher hellroter Fleck mit R_f 22 und ein tief rot gefärbter mit R_f 26. Der letztere Fleck liegt

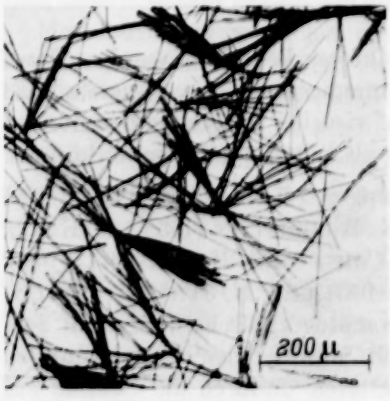


Abb. 1. Unbekannte Substanz aus *Sambucus nigra*, DNN-Verbindung

Abb. 2. Wie Abb. 1, sublimiert

also (übrigens auch mit anderen Laufmitteln) an der gleichen Stelle wie Aethylamin, ist von diesem aber durch die Dinitro-α-Naphthol-Verbindung sicher zu unterscheiden.

Beide Flecken geben merkwürdigerweise das gleiche Dinitro-α-Naphtholat: lange, dunkelbraune Nadeln, die um 100° zu hellen Prismennadeln sublimieren (Abb. 1 und 2) und bei 135° schmelzen.

Im Collidin-Wasser-Chromatogramm treten die Flecken nicht auf; es scheint sich also um kein cyclisches Amin zu handeln.

Eine Identifizierung mit einem der uns als Vergleichssubstanzen zur Verfügung stehenden Amine war nicht möglich.

Im Gegensatz zu den Angaben von G. Klein und M. Steiner (1928) und M. Steiner und H. Löffler (1928) konnten in *Viburnum*-Arten weder i-Butylamin noch Trimethylamin gefunden werden. Hingegen wurden kleine Mengen einer Base vom R_f-Wert 20 festgestellt, die mit Jod eine starke Reaktion gibt. Ihre Dinitro-α-naphthol-Verbindung kristallisiert in ähnlichen Plättchen wie das i-Butylamin. Die Angaben der früheren Autoren sind daher verständlich. Die Substanz ist aber weder mit dem genannten Amin identisch, noch konnte sie mit einer der von uns untersuchten Amine identifiziert werden.

III. Moose

Tetraplodon bryoides und *Splachnum pedunculatum* sind wie andere Splachnaceen dadurch ausgezeichnet, daß ihre unangenehm duftenden Sporenkapseln von Kot- und Aasinsekten besucht werden, welche die Übertragung der Sporen auf die für diese Moose geeigneten Substrate (Tierexkremente, Raubvogelgewölle, Tierleichen) durchführen. *Tetraplodon bryoides* wurde am Steinacher Joch (Brennergebiet), *Splachnum pedunculatum* bei Obergurgl (Oetztaler Alpen) gesammelt. Amine konnten in den Sporogonen von *Tetraplodon* nicht festgestellt werden, in denjenigen von *Splachnum* gelang nur ein nicht ganz sicherer Nachweis von Trimethylamin in Spuren. Die zur Verfügung stehenden Materialmengen (1 bzw. 8 g) waren für unsere Identifizierungsverfahren offenbar nicht ausreichend.

Das Lebermoos *Fimbriaria lindenberghiana* ist durch einen unangenehmen Duft ausgezeichnet, der in der Literatur als „fischähnlich" oder sogar als „Trimethylamingeruch" bezeichnet wird. Zur Untersuchung stand hier genügend Material zur Verfügung: zwei Proben von 60 bzw. 80 g Frischgewicht aus dem Gaisbergtal bei Obergurgl. Die Aufarbeitung ergab *keine Spur von Aminen*. Der Geruch dieser Pflanze hat also mit Aminen sicher nichts zu tun.

Zusammenfassung

1. Mit Hilfe der von E. Stein v. Kamienski (1957) angegebenen Methode wurden 220 Arten von Blütenpflanzen und einige Moose auf das Vorkommen von flüchtigen Aminen untersucht. In 75 Arten wurden Amine mit Sicherheit festgestellt.

2. Es wurden folgende Amine gefunden:

Methylamin in 25 Arten,

Dimethylamin in 1 Art,

Trimethylamin in 19 Arten,
Aethylamin in 3 Arten,
i-Butylamin in 15 Arten,
i-Amylamin in 75 Arten,
β-Phenylaethylamin in 16 Arten.
Methylamin ist in Spuren anscheinend sehr weit verbreitet.

3. In *Sambucus nigra*, *Prunus padus* und *Viburnum*-Arten ist eine ninhydrinpositive flüchtige Base enthalten, die mit keinem der bekannten Amine identifiziert werden konnte.

4. Die Untersuchung verschiedener Entwicklungszustände von Blüten ergab, daß Amine bereits im Knospenstadium zu finden sind. In der Regel tritt dasjenige Amin zuerst auf, welches später seiner Menge nach das „Hauptamin" darstellt.

5. Bei ein- und derselben Pflanzenart kann je nach dem Standort, der Jahreszeit und den Witterungsbedingungen Art und Menge der Amine innerhalb weiter Grenzen schwanken, ohne daß bisher klare Gesetzmäßigkeiten erkennbar wären.

Literatur

Andre, E., et M. Cartoures: C. r. Acad. Sci. Paris **235**, 816 (1952). — Crawford: J. Amer. Med. Assoc. **54**, 865 (1911). Zit. nach M. Guggenheim 1951. — Cromwell, B. T.: Biochemic. J. **45**, 84 (1949). — Gessner, O.: Med. Mschr. **3**, 825 (1949). — Guggenheim, M.: Die biogenen Amine. Basel 1951. — Henry, A. J., and D. N. Grindley: Soc. Chem. Ind. (Lond.) **68**, 9 (1949). — Jensen, K. A., J. Conti u. A. Kjaer: Acta chim. scand. (København.) **7**, 1267 (1953). — Kapeller-Adler, R., u. T. Csato: Biochem. Z. **224**, 378 (1930). — Kapeller-Adler, R., u. B. Vering: Biochem. Z. **243**, 292 (1931). — Kjaer, A., u. H. Conti: Acta chim. scand. (København.) **7**, 1010 (1953). — Kjaer, A., H. Conti u. K. Jensen: Acta chim. scand. (København.) **7**, 1271 (1953). — Kjaer, A., H. Conti u. J. Larsen: Acta chim. scand. (København.) **7**, 1276 (1953). — Kjaer, A., u. K. Rubenstein: Acta chim. scand. (København.) **7**, 528 (1953). — Klein, G., u. M. Steiner: Jb. wiss. Bot. **68**, 602 (1928). — Leprince, M.: C. r. Acad. Sci. Paris **145**, 940 (1907). — Neu, R., u. U. Fiedler: Naturwiss. **41**, 254, 259 (1954). — Riegel, B., D. W. Stanger, D. M. Wikholm, J. Mold and S. Hermann: J. of. Biol. Chem. **177**, 1, 7 (1949). — Schmidt, E.: Ann. Chem. **193**, 73 (1875). — Stein v. Kamienski, E.: Planta (Berl.) **50**, 291 (1957); **50**, 331 (1958) (im Druck). — Steiner, M.: Beitr. Biol. Pflanz. **17**, 247 (1929). — Steiner, M., u. H. Löffler: Jb. wiss. Bot. **71**, 463 (1929). — Steiner, M., u. E. Stein v. Kamienski: Naturwiss. **40**, 483 (1953). — Trier, G.: Über einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweiße und Lecithine. Berlin: Gebrüder Borntträger 1912. — Wakemann, N.: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **14**, 29 (1925). — White, E. P.: New Zealand J. Sci. Technol. Sect., **25**, 137 (1944). Zit. nach Guggenheim, S. 515, 1951. — Winterstein, E.: Die Amine. In Handbuch der Pflanzenanalyse von G. Klein, Bd. 4/1, S. 228 (1933).

Dr. Elard Stein von Kamienski,
Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und -pathologie,
Abteilung für Gewebezüchtung, Berlin-Dahlem, Garystr. 9

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

IX. Internationaler Kongreß für Botanik

Der IX. Internationale Kongreß für Botanik wird vom 19.—29. August 1959 in Montreal/Canada, an der McGill-Universität und der Universität Montreal abgehalten.

Das Programm umfaßt Vorträge und Symposia in bezug auf alle Zweige der reinen und angewandten Botanik. Ein erstes Rundschreiben wird über Programm, Unterkunft, Exkursionen und andere Einzelheiten unterrichten und Anfang 1958 zur Verfügung stehen.

Wer dieses und die folgenden Rundschreiben einschließlich Anmeldungsformulare zu erhalten wünscht, wird gebeten, sich an den Generalsekretär des Kongresses zu wenden:

Dr. C. Frankton
Secretary-General
IX. International Botanical Congress
Science Service Building
Ottawa, Ontario/Canada

Fortschritte der Botanik

Begründet von Fritz von Wettstein. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen und mit der Deutschen Botanischen Gesellschaft herausgegeben von **Erwin Bünning,** Tübingen, und **Ernst Gäumann,** Zürich.

Neunzehnter Band: **Bericht über das Jahr 1956.** Mit 21 Abbildungen. IV, 430 Seiten Gr.-8°. 1957. DM 68.—
Ganzleinen DM 71.80

Inhaltsübersicht: **A. Morphologie: Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle.** Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — **Morphologie einschließlich Anatomie.** Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. — **Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung.** Von Professor Dr. K. Steffen, z. Z. Braunschweig. — **Submikroskopische Morphologie.** Von Privatdozent Dr. K. Mühlethaler, Zürich. — **B. Systemlehre und Pflanzengeographie: Systematik und Phylogenie der Algen.** Von Professor Dr. B. Schussnig, Jena. — **Systematik und Stammesgeschichte der Pilze.** Von Dozent Dr. H. Kern, Zürich. — **Systematik der Flechten**[1]). Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Moose.** Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Pteridophyten.** Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Spermatophyta.** Von Privatdozent Dr. H. Merxmüller, München. — **Paläobotanik.** Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. **Systematische und genetische Pflanzengeographie.** Areal- und Florenkunde. Von Professor Dr. H. Gams, Innsbruck. Floren- und Vegetationsgeschichte seit dem Ende des Tertiärs[1]). Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. — **Ökologische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim. — **Ökologie.** Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.-Münden. — **C. Physiologie des Stoffwechsels. Physikalische und chemische Grundlagen der Lebensprozesse (Strahlenbiologie).** Von Professor Dr. W. Simonis und Professor Dr. H. Glubrecht, Hannover. — **Zellphysiologie und Protoplasmatik.** Von Professor Dr. H. J. Bogen, Braunschweig. — **Wasserumsatz und Stoffbewegungen.** Von Professor Dr. B. Huber, München, und Privatdozent Dr. L. Bauer, Tübingen. — **Mineralstoffwechsel.** Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). — **Stoffwechsel organischer Verbindungen I (Photosynthese).** Von Professor Dr. A. Pirson, Marburg a. d. Lahn. — **Stoffwechsel organischer Verbindungen II.** Von Dr. F. Eberhardt, Tübingen. — **D. Physiologie der Organbildung: Vererbung.** Genetik der Mikroorganismen. Von Professor Dr. R. W. Kaplan, Frankfurt a. M. Genetik der Samenpflanzen. Von Professor Dr. C. Harte, Köln-Lindenthal. — **Cytogenetik**[1]). Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. — **Wachstum.** Von Dozent Dr. J. Reinert, Tübingen. — **Entwicklungsphysiologie.** Von Professor Dr. A. Lang, Los Angeles/Californien (USA). — **Physiologie der Fortpflanzung und Sexualität.** Von Professor Dr. H. Linskens, Nijmegen/Holland. — **Bewegungen**[1]). Von Professor Dr. E. Bünning, Tübingen. — **Viren.** Pflanzenpathogene Viren. Von Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler, Braunschweig. Bakteriophagen. Von Dr. G. Koch, z. Z. Rochelle Park/N. J., USA. — Sachverzeichnis.

Die Abschnitte A und B sind von E. Gäumann und die Abschnitte C und D, sowie das Sachverzeichnis von E. Bünning redigiert.

[1]) Der Beitrag folgt in Band XX.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany